

Aus dem Medizinischen Zentrum für Kinderheilkunde  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. W. Seyberth

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg  
und des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Marburg



**Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate  
bei Kindern und Jugendlichen:  
Alternative Methoden zur Inulin-Clearance und  
der Einfluss der laborchemischen Untersuchungsmethoden**

**INAUGURAL - DISSERTATION**

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin,  
dem Fachbereich Medizin  
der  
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von  
Joachim Schmitt  
aus Kösching

Marburg,

2004

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg  
am: 24.11.2005

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. G. Klaus

Korreferent: Prof. Dr. J. Hoyer

2. Korreferent: Prof. Dr. H. Lange

Für meine Großmutter

Das Leben ist wert, gelebt zu werden,  
sagt die Kunst, die schönste Verführerin;  
das Leben ist wert, erkannt zu werden,  
sagt die Wissenschaft.

Friedrich Nietzsche (1844-1900)

# I. Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>4</b>
<b>III.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>6</b>
<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>8</b>
1.1	Historie.....	8
1.2	Von der Clearance zur GFR .....	8
1.3	Die GFR-Bestimmung in der Praxis.....	10
1.3.1	Inulin-Clearance (CIn) zur GFR-Bestimmung.....	10
1.3.2	Kreatinin zur GFR-Bestimmung .....	11
1.3.2.1	Kreatinin-Clearance.....	11
1.3.2.2	Formelberechnung mit Serum-Kreatinin.....	12
1.3.2.3	Kreatinin-Bestimmung in der klinischen Chemie.....	13
1.3.3	Radioaktive Stoffe zur GFR-Bestimmung .....	14
1.3.4	Röntgenkontrastmittel zur GFR-Bestimmung.....	15
1.3.5	Cystatin C zur GFR-Bestimmung .....	15
<b>2</b>	<b>ZIELE DER ARBEIT .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN.....</b>	<b>19</b>
3.1	Patienten .....	19
3.1.1	Profil .....	19
3.1.2	Einschlusskriterien .....	20
3.1.3	Ausschlusskriterien .....	20
3.1.4	Erwachsene Probanden zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit .....	20
3.2	Ethik.....	21
3.3	Studiendesign.....	21
3.4	Methodik der GFR-Bestimmung .....	23
3.4.1	Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn) – Referenzmethode .....	23
3.4.1.1	Material.....	23
3.4.1.2	Untersuchungsablauf.....	23
3.4.1.3	Auswertung.....	24
3.4.2	24-h-Kreatinin-Clearance (CCr <sub>24-h</sub> ).....	25
3.4.3	Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance (CCr <sub>KZM</sub> ) .....	25
3.4.4	GFR-Bestimmung nach Schwartz (CCr <sub>Schw</sub> ).....	26
3.4.4.1	Ermittlung einer klinikspezifischen Konstanten <i>k</i> zur Optimierung der Schwartz-Formel .....	26
3.4.5	GFR-Bestimmung durch Cystatin C .....	27
3.5	Inulin-Analytik.....	27
3.5.1	Material und Geräte.....	27
3.5.1.1	Enzyme .....	27

3.5.1.2	Weitere Chemikalien .....	27
3.5.1.3	Geräte .....	27
3.5.2	Methode .....	28
3.5.2.1	Lösungen und Inkubationsmedien .....	29
3.5.2.2	Durchführung der Bestimmung .....	29
3.5.3	Evaluation der klinisch-chemischen Inulin-Bestimmung .....	30
3.5.3.1	Ermittlung des Konzentrations-Koeffizienten $k$ und Herstellung von Kontrollen .....	30
3.5.4	Qualitätskontrolle .....	32
3.5.4.1	Präzision .....	32
3.5.4.2	Richtigkeit .....	33
<b>3.6</b>	<b>Kreatinin-Analytik .....</b>	<b>34</b>
3.6.1	Kreatinin-Bestimmung nach Jaffé .....	34
3.6.1.1	Testprinzip .....	34
3.6.1.2	Referenzwerte .....	35
3.6.1.3	Qualitätskontrolle .....	35
3.6.2	Kreatinin-Bestimmung mit Ektachem .....	35
3.6.2.1	Testprinzip .....	35
3.6.2.2	Referenzwerte .....	36
3.6.2.3	Qualitätskontrolle .....	36
3.6.3	Kreatinin-Bestimmung mit Creatinin plus .....	36
3.6.3.1	Testprinzip .....	37
3.6.3.2	Referenzwerte .....	37
3.6.3.3	Qualitätskontrolle .....	37
3.6.3.4	Korrelationsbestimmungen mit Creatinin plus und anderen Methoden .....	37
<b>3.7</b>	<b>Cystatin-C-Analytik .....</b>	<b>38</b>
3.7.1	Testprinzip .....	38
3.7.2	Referenzwerte .....	38
3.7.3	Qualitätskontrolle .....	38
<b>3.8</b>	<b>Statistik .....</b>	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>Ergebnisse der Kreatinin-Bestimmungen .....</b>	<b>40</b>
<b>4.2</b>	<b>Ergebnisse der GFR-Bestimmungen .....</b>	<b>41</b>
4.2.1	Übersicht der GFR-Bestimmungen .....	41
4.2.2	Korrelationen und Regressionen .....	43
4.2.2.1	Zusammenhang zwischen $Cl_n$ und $CCr_{24-h}$ .....	43
4.2.2.2	Zusammenhang zwischen $Cl_n$ und $CCr_{KZM}$ .....	45
4.2.2.3	Zusammenhang zwischen $Cl_n$ und $CCr_{Schw}$ .....	46
4.2.2.4	Zusammenhang zwischen $Cl_n$ und Cystatin C .....	47
4.2.2.5	Konfidenzintervalle aller Korrelations-Koeffizienten .....	48
4.2.3	Bland&Altman-Plots .....	50
4.2.3.1	Übereinstimmung zwischen $Cl_n$ und $CCr_{24-h}$ .....	51
4.2.3.2	Übereinstimmung zwischen $Cl_n$ und $CCr_{KZM}$ .....	53
4.2.3.3	Übereinstimmung zwischen $Cl_n$ und $CCr_{Schw}$ .....	55
4.2.3.4	Übereinstimmung zwischen $Cl_n$ und $GFR_{CysC}$ .....	57
4.2.3.5	Zusammenfassung aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots .....	59
4.2.4	Optimierung der Schwartz-Formel für die Universitäts-Kinderklinik Marburg .....	60
4.2.4.1	Ermittlung neuer Konstanten $k$ .....	60
4.2.4.2	Bland&Altman-Plots der $CCr_{Schw}$ berechnet mit neuen $k$ .....	62
<b>4.3</b>	<b>Ergebnisse der Tag-zu-Tag-Untersuchung bei erwachsenen Kontrollprobanden .....</b>	<b>63</b>

<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>68</b>
5.1	Studienprotokoll.....	68
5.2	Probleme der statistischen Auswertung vergleichender Studien.....	68
5.3	Single-Injection-Inulin-Clearance als Referenzmethode .....	71
5.3.1	Single-Injection-Inulin-Clearance .....	71
5.3.2	Inulin-Analytik.....	72
5.3.3	Berechnung der Single-Injection-Inulin-Clearance.....	72
5.4	Kreatinin-Analytik.....	73
5.5	Diskussion der verschiedenen Kreatinin-Clearance-Methoden.....	77
5.5.1	Schwartz-Clearance ( $CCr_{Schw}$ ).....	78
5.5.2	24-h-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{24-h}$ ).....	82
5.5.3	Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{KZM}$ ) .....	86
5.6	Diskussion der Tag-zu-Tag-Untersuchungen .....	88
5.7	Diskussion der Ergebnisse der Nierenfunktionsprüfung durch Cystatin C .....	90
5.8	Beurteilung der Durchführbarkeit .....	93
5.8.1	Beurteilung der Durchführbarkeit der Single-Injection-Inulin-Clearance ( $CI_n$ ) .....	94
5.8.2	Beurteilung der Durchführbarkeit der 24-h-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{24-h}$ ) .....	94
5.8.3	Beurteilung der Durchführbarkeit der Kurz-Zeit-Methode ( $CCr_{KZM}$ ) .....	95
5.8.4	Beurteilung der Durchführbarkeit der Formelberechnung nach Schwartz ( $CCr_{Schw}$ ).....	96
5.9	Gibt es einen Goldstandard zur GFR-Bestimmung? .....	96
5.10	Schlussfolgerung.....	97
<b>III.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>99</b>
<b>IV.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>107</b>
<b>V.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>109</b>
<b>VI.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>110</b>

## II. Abkürzungsverzeichnis

1,96*SD	1,96-fache Standardabweichung
ADP	Adenosin-Di-Phosphat
ATP	Adenosin-Tri-Phosphat
bds.	beidseits
BE	Blutentnahme
BöMa	Boehringer Mannheim
C	Celsius
CCr	Kreatinin-Clearance
CCr <sub>24-h</sub>	24-h-Kreatinin-Clearance
CCr <sub>KZM</sub>	Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance
CCr <sub>Schw</sub>	Schwartz-Clearance
CIn	Inulin-Clearance
CNI	Chronische Niereninsuffizienz
Cr	Chrom
CysC	Cystatin C
dest.	destilliert
DM	Deutsche Mark
DTPA	Diethylene-Thiamine-Penta-Acetat
E	Extinktion
EDTA	Ethylene-Diamine-Tetra-Acetat
G-6-P-DH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GN	Glomerulonephritis
GOD	Glucose-Oxidase
HK	Hexokinase
HPLC	High-Pressure-Liquid-Chromatography
I	Jod
i. v.	intravenös
kDa	Kilo Dalton
k	Korrekturfaktor
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
Konz.	Konzentration

Konz.-Koef.	Konzentrationskoeffizient
l	Liter
Lj.	Lebensjahr
M	Mittelwert
min	Minuten
MW	Molekulargewicht
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (oxidiert)
NADPH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (reduziert)
NTx	Nierentransplantation
p. i.	post injectionem
PGE	Prostaglandin E
PGI	Phospho-Glycerol-Isomerase
Reg.	Regressionsgerade
SD	Standardabweichung
Tc	Technetium
VK	Variationskoeffizient
Z. n.	Zustand nach



### III. Zusammenfassung

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist der wichtigste Parameter zur Bestimmung der Nierenfunktion. Das Ausmaß einer Nierenerkrankung, ihre klinische Relevanz sowie Prognose hängen maßgeblich von der GFR ab. Damit ist ihre Bestimmung von entscheidender diagnostischer und therapeutischer Bedeutung. Die GFR ist jedoch nicht direkt messbar, so dass seit fast zwei Jahrhunderten immer wieder neue, indirekte Methoden zur Bestimmung gesucht wurden.

Die seit 1935 in verschiedenen Modifikationen durchgeführte Inulin-Clearance gilt bislang als genaueste Methode. Sie ist jedoch für den Patienten aufgrund der mehrere Stunden andauernden Untersuchung mit wiederholten Blutentnahmen und ggf. Blasen-katheterisierung sehr belastend. Dies gilt insbesondere für Kinder.

Bereits 1929 wurde ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem endogenen Kreatinin und der GFR beschrieben. Die 24-h-Kreatinin-Clearance mit 24-stündiger Urinsammlung und einer Blutentnahme ist derzeit eine der anerkannten Alternativen zur Inulin-Clearance. Zahlreiche verschiedene Modifikationen der Kreatinin-Clearance mit kurzzeitigen Urinsammlungen wurden ebenfalls untersucht, jedoch besteht bis heute über die tatsächlichen Übereinstimmungen mit der GFR Uneinigkeit. Weitere Methoden zur GFR-Bestimmung sind unterschiedliche Formelberechnungen, in die Korrekturfaktoren, Körpermaße und die Serum-Kreatinin-Konzentration eingehen – eine Urinsammlung ist hier nicht nötig.

Ziel der vorliegenden Studie war es, (a) die Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance mit einer Urinsammlung von 3 x 90 Minuten, (b) die Standard-24-h-Kreatinin-Clearance und (c) die urinunabhängige Schwartz-Formel mit der Inulin-Clearance zu validieren.

Da die Bestimmung des Kreatinins in Serum und Urin methodenabhängig ist, wurden drei verschiedenen Messmethoden (die klassische Jaffé-Methode, die vollenzymatische Creatinin-plus-Methode und die trocken-enzymatische Methode von Kodak) evaluiert.

Im Zeitraum von 1996 bis 1997 wurden 27 Kinder an der Universitäts-Kinderklinik Marburg untersucht. Die Mehrzahl der Probanden hatte eine diskret eingeschränkte Nierenfunktion. Die statistischen Auswertungen erfolgten durch Bland&Altman-Plots. Außerdem wurden Regressionen und Korrelationen sowie deren 95%-Konfidenzintervalle berechnet.

Die Bland&Altman-Plots zeigten folgende einfache Standard-Abweichungen von der Referenzmethode in Abhängigkeit der Kreatinin-Bestimmungsmethode: für die

Schwartz-Clearance zwischen 16 und 23 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; für die Kurz-Zeit-Methode 17 bis 27 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und für die klassische 24-h-Kreatinin-Clearance 18 bis 23 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die 95%-Konfidenzintervalle der Regressionsanalysen zwischen den verschiedenen Untersuchungsmethoden und der Inulin-Clearance zeigten ähnliche, von den Kreatinin-Bestimmungsmethoden abhängige Ergebnisse. Die Schwartz-Clearance zeigte die schmalsten Intervalle mit [0,67-0,72 bis 0,92-0,94]. Die Intervalle für die Kurz-Zeit-Methode betrugen [0,56-0,69 bis 0,89-0,93]. Ähnliche Ergebnisse zeigte die 24-h-Kreatinin-Clearance mit [0,59-0,64 bis 0,90-0,92].

Die klassische und kostengünstigste Jaffé-Methode ergab dabei die besten Übereinstimmungen mit den geringsten Abweichungen von der Inulin-Clearance. Die mit HPLC vergleichbar propagierte Methode „Creatinin plus“ zeigte überraschenderweise deutlich schlechtere Werte. Die Ergebnisse mit Kodak-Ektachem wichen ebenfalls mehr von der Inulin-Clearance ab als mit Jaffé. Die Ergebnisse der Schwartz-Clearance müssen durch eine klinikspezifische Anpassung der Korrekturfaktoren weiter verbessert werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten: Die evaluierte Kurz-Zeit-Methode ist nicht geeignet für die präzise GFR-Bestimmung bei Kindern, auch unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode. Die Übereinstimmung mit der Inulin-Clearance ist schlechter als die der Schwartz-Clearance und vergleichbar mit der klassischen 24-h-Clearance. Die häufige, zeitgenaue Miktion ist schwierig zu realisieren. Außerdem sind zwei Blutentnahmen notwendig, was für den Patienten belastend ist. Das Management der mehreren Urin- und Serum-Proben erfordert konzentriertes Arbeiten, Verwechslungen sind schnell möglich.

Insgesamt wichen alle Methoden von der Referenzmethode klinisch relevant ab, so dass eine genaue Bestimmung der GFR nicht möglich ist. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Schwartz-Clearance nicht nur die Methode ist, die die beste Übereinstimmung mit der Inulin-Clearance aufweist; darüber hinaus lässt sie sich auch am besten durchführen und ist daher die für die Routinediagnostik geeigneteste Methode.

# 1 Einleitung

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist neben der Proteinurie der wichtigste Parameter zur Beurteilung der Nierenfunktion. Sie korreliert gut mit dem klinischen Erscheinungsbild einer akuten oder chronischen Nierenerkrankung (Levey AS 1990), wie auch dem Verlauf der chronischen Abstoßung einer Transplantatniere. Außerdem spiegelt die GFR den Erfolg oder Misserfolg der Therapie einer Nierenerkrankung wider. Des Weiteren muss bei Medikamenten mit überwiegend renaler Elimination, eine Dosisanpassung bei eingeschränkter Nierenfunktion erfolgen.

Die vorliegende Arbeit untersucht und vergleicht neue Möglichkeiten der Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate bei Kindern. Im Mittelpunkt steht die Frage nach der Notwendigkeit von aufwendigen und traumatisierenden Methoden. Ziel ist es, Untersuchungsmethoden für pädiatrische Patienten zu finden, die bei noch klinisch ausreichender Genauigkeit eine minimale Belastung darstellen.

## 1.1 Historie

Seit zwei Jahrhunderten beschäftigen sich Marburger Wissenschaftler mit der Erforschung der Niere. 1842 hatte Carl F. Ludwig (1816-1895, Physiologe in Marburg, Zürich, Wien und Leipzig) erstmals die Hypothese aufgestellt, dass der Primärharn durch Ultrafiltration am Glomerulus entsteht und anschließend durch tubuläre Rückresorption modifiziert wird (Ludwig 1842). Dreißig Jahre später entwickelte Adolf Fick (1829-1901, Physiologe in Marburg, Zürich und Würzburg) das „Ficksche Prinzip“: eine Mengenbilanz, ursprünglich entwickelt zur unblutigen Bestimmung des Herzzeitvolumens, mit dessen Hilfe die GFR berechnet werden konnte (Silbernagel & Despopoulos 1991).

## 1.2 Von der Clearance zur GFR

Nach dem Fickschen Prinzip kann aus der Mengenbilanz eines Indikators, dessen Konzentrationen am Ein- und Ausgang eines Organs gemessen werden, auf die Flussraten der Medien geschlossen werden, in denen der Indikator gelöst ist.

Auf die Niere übertragen bedeutet das:

- Ein Stoff der
- frei filtriert,
  - nicht resorbiert,
  - nicht sezerniert,
  - weder im Tubuluslumen gebildet noch abgebaut wird und
  - nicht an Plasmaeiweiß gebunden ist,

kann nur durch Filtration ins Tubuluslumen gelangen, und nur durch Ausscheidung dieses wieder verlassen.

Für das ungeladene pflanzliche Fruktosepolymer Inulin gelten diese Eigenschaften mehr als für alle anderen bekannten Stoffe (Perrone RD 1992).

Folgender Zusammenhang lässt sich demnach beschreiben:

$$\text{filtrierte Menge/Zeit} = \text{ausgeschiedene Menge/Zeit.}$$

Da **Menge/Zeit = (Volumen/Zeit) × Konzentration** und die Konzentrationen eines frei filtrierbaren Stoffes in Plasma (P) und Filtrat gleich groß sind, ergibt sich für Inulin (In) die Gleichung:

$$\text{GFR} \times P_{\text{In}} [\text{g/l}] = V_{\text{U}}/t \times U_{\text{In}} \quad (1),$$

wobei GFR in [ml/min],  $V_{\text{U}}$  das Urinvolumen in [ml],  $t$  die Sammelzeit in [min] und  $P_{\text{In}}$  sowie  $U_{\text{In}}$  die Inulin-Konzentrationen in Plasma und Urin [g/l] sind. Nach Umstellen der Formel erhält man:

$$\frac{V_{\text{U}} \times U_{\text{In}}}{t \times P_{\text{In}}} = \text{GFR} \quad (2).$$

Bezogen auf die Norm-Körperoberfläche von  $1,73 \text{ m}^2$  ergibt sich folgende Formel:

$$\frac{V_{\text{U}} \times U_{\text{In}} \times 1,73 \text{ m}^2}{t \times P_{\text{In}} \times \text{KOF} [\text{m}^2]} = \text{GFR} [\text{ml/min}/1,73 \text{ m}^2] \quad (3).$$

Die linke Seite der Formel entspricht einer Clearance, d. h. der Elimination eines Stoffes aus einem Medium pro Zeiteinheit. Für den idealen Stoff wie Inulin gilt:

$$\text{Clearance} = \text{GFR}$$

Die glomeruläre Filtrationsmenge beträgt täglich etwa 180 l. Umgerechnet auf die Minute und die Norm-Körperoberfläche von  $1,73 \text{ m}^2$  ergibt sich der Normwert von 85 – 135 ml/min pro  $1,73 \text{ m}^2$ .

## 1.3 Die GFR-Bestimmung in der Praxis

### 1.3.1 Inulin-Clearance (C<sub>In</sub>) zur GFR-Bestimmung

Die klassische Methode der GFR-Bestimmungen mittels Inulin ist die renale Inulin-Clearance (Standard-Inulin-Clearance). Inulin wird intravenös (i. v.) zuerst in einer Aufsättigungsdosis, anschließend als Dauerinfusion appliziert (Shannon JA et al. 1935). Je nach Protokoll wird nach einer Verteilungsphase von etwa einer Stunde mehrfach Urin gesammelt; mit Blasenkatheterisierung in Intervallen von 10 bis 20 Minuten, ohne Katheterisierung in Intervallen von etwa 90 min. Daraus bestimmt werden das Urinvolumen und die Inulin-Konzentration von Urin und Plasma. Nach der o. a. Formel (2) lässt sich so die GFR bestimmen.

Die Untersuchung ist aus folgenden Gründen für den Patienten belastend und für Ärzte und Pflegepersonal aufwendig: Sie erfordert zwei venöse Zugänge, häufige Blutentnahmen und eine durchschnittliche Untersuchungsdauer von vier Stunden. Dabei sollte der Patient möglichst Bettruhe einhalten. Risiken der Blasenkatheterisierung sind Infektionen oder späterer Urethrastrikturen. Ohne Katheterisierung kann das Ergebnis durch die ungenaue Urinsammlung verfälscht werden. Die anschließende Laborbestimmung ist ebenfalls zeitaufwendig und kostenintensiv. Sie dauert etwa drei Stunden und die Materialkosten betragen zwischen 40 und 60 €.

Earle und Berliner beschrieben 1946 erstmals die „Plasma-Inulin-Clearance“, bei der keine Urinsammlung mehr nötig war. Sie konnten nachweisen, dass bei gleich bleibender Plasma-Inulin-Konzentration die kontinuierliche Inulin-Infusion der Inulin-Exkretion über die Niere entspricht. Somit gilt:

$$\text{GFR [ml/min]} = \text{Infusionsrate [mg/min]} / P_{\text{In}} [\text{mg/ml}].$$

Ein weiterer Schritt zur Vereinfachung der Methode war die „Single-Shot-Methode“. Bei dieser erfolgt eine einmalige intravenöse Inulin-Applikation. Anschließend wird in bestimmten Zeitabständen Inulin im Plasma bestimmt. Anhand des pharmakokinetischen Verlaufs kann nach dem Ein- oder Zwei-Kompartiment-Modell die GFR berechnet werden. Abgesehen von einer Ungenauigkeit bei Kindern in den ersten drei Lebenstagen (Fawer CL et al. 1979), haben viele Studien die gute Übereinstimmung mit der Standard-Inulin-Clearance belegt (Broberger U 1973; Florijn KW et al. 1994; Muller-Suur R et al. 1983; Rosenbaum JL et al. 1973).

Die Single-Shot-Methode wurde in dieser Studie als Referenzmethode verwendet und ist im Methodenteil (Kapitel 3.4.1) detailliert beschrieben.

### 1.3.2 Kreatinin zur GFR-Bestimmung

#### 1.3.2.1 Kreatinin-Clearance

Seit Beginn der Clearance-Forschung versuchen Wissenschaftler, einen endogenen, das heißt körpereigenen Stoff zu finden, der den Eigenschaften des Inulins entspricht. Der bekannteste und wohl am besten erforschte ist das Kreatinin, das 1847 durch Justus Liebig entdeckt wurde (Liebig J 1847). Kreatinin entsteht im Muskelstoffwechsel aus Phosphokreatin (Hahn A et al. 1923), und ist somit direkt von der Muskelmasse abhängig. Kreatinin lässt sich in allen Körperflüssigkeiten nachweisen (Mayers VC et al. 1919; Schumann R 1831). 1929 postulierte Rehberg die freie glomeruläre Filtration und tubuläre Konzentration von Kreatinin, welches weder resorbiert noch sezerniert würde (Rehberg PB 1929). Doch zeigten sich bei weiterer Erforschung, dass Kreatinin dem idealen Marker Inulin in einigen Eigenschaften nachsteht:

1935 konnte Shannon die aktive Sekretion von Kreatinin beweisen, indem er durch Applikation des organischen Kathions Phlorizin die proximal-tubuläre Sekretion kompetitiv hemmte und so die Kreatinin-Ausscheidung reduzierte (Shannon JA 1935). Weitere Studien konnten den gleichen Zusammenhang für Cimetidin und Trimethoprim zeigen, die am gleichen Transporter angreifen (Berglund F et al. 1975; Burgess E et al. 1982; Dubb JW et al. 1978).

Die mit abfallender GFR zunehmende tubuläre Sekretion von Kreatinin führt zu einer falsch-hohen GFR-Bestimmung mittels der klassischen Formel (s. Formel (2)). Verschiedene Cimetidin-Protokolle wurden entwickelt, um die Kreatinin-Clearance v. a. in niedrigen GFR-Bereichen zu verbessern (Hellerstein S et al. 1998). Die immunmodulierende Wirkung dieses H<sub>2</sub>-Blockers wurde dabei wenig kritisch betrachtet. Sie betrifft insbesondere die immunsupprimierten Patienten. Denn Cimetidin kann als Inhibitor des hepatisch microsomalen Cytochroms P450 den Abbau von Cyclosporin-A und Kortikosteroiden hemmen, was zu einer Übersuppression führen kann. Andererseits kann Cimetidin durch Steigerung der Interleukin-2-Produktion die Immunsuppression vermindern (Gifford RR et al. 1988). Weiterhin gibt es Hinweise, dass bei stark eingeschränkter GFR Kreatinin zusätzlich enteral sezerniert wird (Mitch WE et al. 1980). Demnach besitzt Kreatinin einige Eigenschaften, die nicht denen eines idealen Markers entsprechen.

In der pädiatrischen Nephrologie herrscht über die klinische Bedeutung der Kreatinin-Clearance nach wie vor Uneinigkeit.

Als „klassische“ Kreatinin-Clearance wird die 24-h-Kreatinin-Clearance angewendet. In der Literatur sind sehr gute (Giovannetti S et al. 1991) bis hin zu schlechten Übereinstimmungen (Payne RB 1986) mit der Inulin-Clearance beschrieben.

Eine entscheidende Fehlerquelle ist die Urinsammlung. Oft von den Patienten selbst durchgeführt, können Urinportionen verloren gehen. Bei kleinen Kindern ist die Mengen- bzw. die Kreatinin-Bestimmung in Windeln fast unmöglich, und auch das Kleben von Urinbeuteln ist für Kinder und Pflegepersonal frustrierend. Ein weiterer häufiger Fehler ist das Nicht-Verwerfen der ersten Urinportion zu Beginn der Sammelperiode. Eine Erleichterung für die Patienten und eine Reduktion des Verlustes von Urinproben, insbesondere nachts, könnten eine Kurz-Zeit-Clearance begünstigen.

Ob eine modifizierte Urinsammlung mit  $3 \times 90$  min dauernder Sammelperiode Vorteile bei pädiatrischen Patientenkollektiven erbringt, soll u. a. die vorliegende Studie klären.

### **1.3.2.2 Formelberechnung mit Serum-Kreatinin**

Im klinischen Alltag ist die gängigste Methode zur Abschätzung der Nierenfunktion die alleinige Serum-Kreatinin-Bestimmung. Auf eine Blutentnahme beschränkt, lässt sich anhand von Normwerten bzw. durch Formelberechnung die GFR abschätzen.

Wie eingangs erwähnt ist Kreatinin von der Muskelmasse abhängig; das heißt, es steigt bei Kindern ohne Verlust der Nierenfunktion kontinuierlich an. Eine Ausnahme stellen die ersten vier Lebenswochen dar, in denen es durch verschiedene physiologische Umstellungen an der noch teils unreifen Niere zu hohen Serum-Kreatinin-Konzentrationen kommt (Guignard JP et al. 1999a; Rudd PT et al. 1983).

Anstiege der Serum-Kreatinin-Konzentration von bis zu 52% sind nach Einnahme von stark proteinhaltigen Mahlzeiten berichtet worden (Mayersohn M et al. 1983). Dieser als „funktionelle Reserve“ bezeichnete GFR-Anstieg wurde in ersten Versuchen in Österreich nach Verspeisen eines Wiener Schnitzels (200 g) untersucht.

Auf die laborchemischen Probleme der Kreatinin-Bestimmung wird in Kapitel 1.3.2.3 eingegangen.

Trotz dieser Fülle von Einflussgrößen hat noch kein anderer endogener Marker das Kreatinin für die Routinebestimmung ersetzt. Für genauere Fragestellungen wurden immer wieder neue Nomogramme oder Formeln, u. a. abhängig von Alter, Geschlecht und Größe, entwickelt, um möglichst präzise und v. a. ohne den Aufwand der Urinsammlung die GFR zu bestimmen. Die 1976 von Cockcroft und Gault (Cockcroft

DW et al. 1976) entwickelte Formel für Erwachsene wird im klinischen Alltag häufig eingesetzt.

Im gleichen Jahr entwickelten Schwartz (Schwartz GJ et al. 1976) und Counahan (Counahan R et al. 1976) unabhängig voneinander Formeln für Kinder. Sie beruhen auf der Proportionalität der Kreatinin-Exkretion zur Muskelmasse. Diese wiederum sind direkt proportional zur Größe und in gewissem Maß auch zur Körperkonstitution.

Daraus folgt die Formel:

$$\text{GFR [ml/min} \times 1,73\text{m}^2] = \frac{k \times L [\text{cm}]}{P_{\text{Cr}} [\text{mg/dl}]} \quad (4),$$

wobei „L“ die Körperlänge und „P<sub>Cr</sub>“ die Plasma-Kreatinin-Konzentration ist. Die Konstante „k“ wird durch lineare Regression als Funktion L/P<sub>Cr</sub> von CCr bzw. besser noch von CIn geometrisch ermittelt, wobei zwei konstitutionelle Gruppen unterschieden werden:

I. Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj. und

Mädchen bzw. junge Frauen vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,55$

II. Jungen bzw. junge Männer vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,7$

Gute Übereinstimmungen mit der Inulin-Clearance konnten nachgewiesen werden (Payne RB 1986); (Haenggi MH et al. 1999; Schwartz GJ et al. 1987).

Die Methode ist leicht durchzuführen, stellt eine minimale Belastung für den Patienten dar, bietet wenige Fehlerquellen und ist zudem mit vier Cent pro Bestimmung (nach Jaffé) sehr kostengünstig. In wie weit Präzision und Richtigkeit für den klinischen Alltag in allgemeinen und speziellen Fragestellungen sowie für wissenschaftliche Zwecke ausreichen, ist bis heute nicht eindeutig geklärt.

### 1.3.2.3 Kreatinin-Bestimmung in der klinischen Chemie

Nicht nur die Untersuchungsmethode beeinflusst das Ergebnis der GFR, sondern auch die Kreatinin-Bestimmungsmethode im klinisch-chemischen Labor. Die häufigste Nachweismethode für Kreatinin ist die „Jaffé-Methode“, ein colorimetrisches Assay, welches zur Reaktion zwischen Kreatinin und Picrinsäure führt und kostengünstig an Autoanalysern (z.B. Hitachi 917) durchgeführt werden kann. Andere Methoden sind v. a. trocken-chemische, enzymatische (z.B. Kodak-Ektachem) oder nass-chemisch, enzymatische (z.B. Hitachi 917) Methoden. Je nach Methode können verschiedene Chromogene wie Bilirubin aber auch Acetoacetat, Hämolyse, Glucose, Albumin und



Cephalosporine zu falsch-hohen oder falsch-niedrigen Ergebnissen führen (Vassault A et al. 1992). Lange Zeit war die High-Pressure-Liquid-Chromatography (HPLC) die Referenzmethode um Kreatinin präzise und richtig zu messen. Jedoch ist diese Methode zur Routinebestimmung nicht geeignet, da sie sehr zeit- und kostenaufwendig und wegen Hintergrundrauschen nicht problemlos durchzuführen ist. Die derzeitige Referenzmethode für die Kreatinin-Bestimmung ist die Isotopen-Dilutions-Gas-Chromatographie-Massen-Spektrometrie (ID GC-MS) (Siekman L 1985; Stockl D et al. 1993; Welch MJ et al. 1986).

Seit 1996 bietet Boehringer Mannheim (BöMa) den enzymatischen Test „Creatinin plus“ an, der an üblichen Autoanalysen verwendet werden kann und sehr gute Übereinstimmungen mit der HPLC sowie ID GC-MS zeigt. Ein großer Vorteil ist die Störunanfälligkeit gegenüber verschiedenen, hoch konzentrierten Chromogenen.

In der vorliegenden Studie soll die Abhängigkeit der GFR-Bestimmung von der Kreatinin-Bestimmungsmethode als zweites Ziel evaluiert werden.

### 1.3.3 Radioaktive Stoffe zur GFR-Bestimmung

Für die GFR-Bestimmung werden verschiedene radioaktive Marker für die GFR-Bestimmung verwendet. Die am häufigsten verwendeten sind  $^{125}\text{I}$ -Iothalamat,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Diethylene-Thiamine-Penta-Acetat ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA) und  $^{51}\text{Cr}$ -Ethylene-Diamine-Tetra-Acetat ( $^{51}\text{Cr}$ -EDTA). Alle drei Stoffe haben ein geringes Molekulargewicht. Die Plasmabindung sowie die extrarenale Exkretion sind vernachlässigbar. Somit erfüllen die Stoffe wichtige Voraussetzungen für einen guten GFR-Marker.

Sie können ebenso wie Inulin als Clearance-Methode oder als Single-injection-Methode verwendet werden und mit pharmakologischen Modellen zur GFR-Bestimmung führen. Problematisch sind die nötige Infrastruktur für das Handling mit radioaktiven Stoffen und die Strahlenbelastung für den Patienten. Diese ist zwar in der Regel geringer als eine konventionelle Röntgen-Thorax-Aufnahme (Perrone RD 1992), jedoch bedeutet dies gerade für nephrologische Patienten, die häufiger der Untersuchung unterzogen werden müssen, ein zusätzliches Risiko.

Sowohl  $^{125}\text{I}$ -Iothalamat als auch  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA überschätzen die GFR (Odlind B et al. 1985; Rehling M et al. 1984). Analog zur tubulären Sekretion von Kreatinin über den Kathionen-Transporter, wird  $^{125}\text{I}$ -Iothalamat über einen tubulären Anionen-Transporter sezerniert, der mit Probenecid blockierbar ist. Der Weg der extrarenalen Elimination von  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA ist unklar.

Auch die  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA überschätzt die GFR, da es ebenfalls extrarenal eliminiert wird (Rehling M et al. 1984).

Obwohl die Präzision und Richtigkeit der radioaktiven Methoden den kreatininabhängigen GFR-Bestimmungsmethoden teilweise überlegen sind, ist angesichts des aufwändigen Handlings sowie der Strahlenbelastung für den Patienten der Stellenwert im klinischen Alltag nicht eindeutig geklärt und die Verwendung v. a. wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten.

#### **1.3.4 Röntgenkontrastmittel zur GFR-Bestimmung**

Auch das Röntgenkontrastmittel Iohexol (Omnipaque<sup>®</sup>) kann zur GFR-Bestimmung verwendet werden. Normalerweise wird es für verschiedene röntgenologische Verfahren wie konventionelles Röntgen, Computer-Tomographie und Angiographie eingesetzt.

Neben seinen Eigenschaften als Kontrastmedium, erfüllt es sämtliche Kriterien für einen guten Clearance-Marker: Es ist nicht-ionisch, niedrig-osmolar, hat nur eine geringe Plasma-Eiweiß-Bindung und wird somit ausschließlich über die Niere ausgeschieden. Der Nachweis ist mit HPLC bzw. mit Röntgen-Fluoreszenz möglich. Jedoch enthalten die Iohexol-Präparate zwei Isomere (Krutzen E et al. 1984). Dies verkompliziert den labortechnischen Nachweis.

Seit 1984 wird Iohexol erfolgreich zur GFR-Bestimmung eingesetzt und ist den radioaktiven Markern in allen Eigenschaften überlegen (Back SE et al. 1993; Brown SC et al. 1991).

#### **1.3.5 Cystatin C zur GFR-Bestimmung**

Seit 1985 wird für Cystatin C eine Markereigenschaft zur Nierenfunktionsprüfung postuliert. Erst ein Jahr zuvor konnte die Arbeitsgruppe um Brzin den Cystein-Proteinase-Inhibitor Cystatin aus menschlichem Serum isolieren. Die Zusatzbezeichnung „C“ ergab sich aus der starken Ähnlichkeit mit den Hühnereiweiß- und Säuger-Cystatinen A und B.

Weiterhin zeigte sich, dass Cystatin C identisch mit dem bereits 1962 entdeckten „ $\gamma$ -trace“ ist, welches sich in sämtlichen Körperflüssigkeiten nachweisen lässt (Brzin J et al. 1984).

Das genetisch entschlüsselte Cystatin C besteht aus 120 Aminosäuren und ist auf dem Chromosom 20 lokalisiert. Das Molekulargewicht beträgt 13,359 kDa.

Es wird von allen kernhaltigen Zellen produziert und lässt sich in sämtlichen Körperflüssigkeiten nachweisen – besonders in Liquor und Sperma. Cystatin C wird glomerulär frei filtriert und fast vollständig im proximalen Tubulus metabolisiert. Die Urinkonzentrationen betragen zwischen 0,03 und 0,3 mg/l. In verschiedenen Studien wurden Referenzwerte an gesunden Erwachsenen sowie an Kindern und Jugendlichen ermittelt. Zwischen dem ersten und 18. Lebensjahr ergab eine Studie von Bökenkamp et al. (1998) an 258 gesunden Probanden einen Serum-Referenzbereich von 0,7 bis 1,38 mg/l. Die Cystatin-C-Konzentration in den ersten Lebensstagen ist deutlich höher (1,64 – 2,59 mg/l), fällt dann aber schnell bis zum 4. Lebensmonat ab (Bökenkamp A et al. 1998a).

Die physiologische Funktion des Cystatin C scheint v. a. protektiver Art zu sein; es schützt Bindegewebszellen vor der Zerstörung durch frei werdende Enzyme apoptotischer oder maligner Zellen (Odland B et al. 1985).

Die Befürworter des Cystatin C postulieren eine konstante Serum-Konzentration, unbeeinflusst von physiologischen Prozessen und ausschließlich abhängig von der Nierenfunktion. Tatsächlich konnten einige Autoren dies für entzündliche Prozesse nachweisen (Grubb A et al. 1985; Simonsen O et al. 1985). In anderen Studien jedoch konnten Konzentrationsanstiege bei HIV-Infektion, Dexamethason-Applikation, malignem Melanom oder nach Nierentransplantation nachgewiesen werden (Bjarnadottir M et al. 1995; Bökenkamp A et al. 1999; Colle A et al. 1992; Kos J et al. 1997).

Über den tatsächlichen Vorteil gegenüber Kreatinin herrscht Uneinigkeit. Häufig ist das zurückhaltende Fazit, Cystatin C sei ein ähnlich guter Marker wie Kreatinin (Filler G et al. 1999; Stickle D et al. 1998). Andere Studien konnten eine diagnostische Überlegenheit für Cystatin C nachweisen (Bökenkamp A et al. 1998; Helin I et al. 1998; Ylinen EA et al. 1999).

Ergänzend ist zu erwähnen, dass bei den meisten Untersuchungen die Cystatin-C-Konzentration direkt mit der Serum-Kreatinin-Konzentration bzw. deren Kehrwerte ( $1/\text{Cystatin C}$ ,  $1/\text{Kreatinin}$ ) verglichen wurde. Vor allem bei Kindern ist die geringe Aussagekraft der alleinigen Kreatinin-Konzentration bekannt, so dass für den klinischen Alltag meist die Formelberechnung zur GFR-Berechnung verwendet wird. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Cystatin-C-Konzentrationen, ist letztere häufig unterlegen (Filler G et al. 1999).

Die Arbeitsgruppe von Bökenkamp versuchte 1998, die Cystatin-C-Werte direkt durch eine evaluierte Formel in die GFR umzurechnen. Dabei ergaben sich die identischen Testergebnisse wie für den Kehrwert des Cystatin C (Bökenkamp A et al. 1998). Die Cystatin-C-Bestimmung erfolgte mit dem Test-Kit der Firma DAKO. In der vorliegenden Studie wurde das Test-Kit der Firma DADE-Behring verwendet. Erlandsen EJ et al. (1999) konnten Abweichungen bis zu 20% zwischen den beiden Test-Kits nachweisen, was auf die Verwendung von unterschiedlichen Kallibratoren zurückzuführen ist. Die GFR-Formel für Cystatin C von Bökenkamp ist somit für das DADE-Test-Kit nicht geeignet. Im August 2003 veröffentlichten Filler G et al. (2003) erstmals eine GFR-Formel für Cystatin C, bestimmt durch das DADE-Test-Kit.

Einen weiteren interessanten Aspekt beleuchteten Keevil et al. in einer 1998 veröffentlichten Studie: Es konnte für Kreatinin eine deutlich geringere intraindividuelle, umgekehrt für Cystatin C eine geringere interindividuelle Varianz nachgewiesen werden. Für die Praxis bedeutet dies, dass Cystatin C besser für Screeninguntersuchungen, Kreatinin dagegen besser für Verlaufskontrollen bei bekannter Nierenerkrankung geeignet ist (Keevil BG et al. 1998).

## 2 Ziele der Arbeit

Folgende zwei Ziele wurden in der vorliegenden Arbeit verfolgt:

- I. Die Evaluation einer Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance mit  $3 \times 90$  minütiger Urinsammlung ( $CCr_{KZM}$ ), im Vergleich mit der „klassischen“ 24-h-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{24-h}$ ) und der GFR-Bestimmung durch Formelberechnung nach Schwartz ( $CCr_{Schw}$ ).

Die Beobachtungsgrößen sind das Maß der Übereinstimmung und des Zusammenhangs der Methoden mit der Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn). Außerdem wird die Durchführbarkeit der einzelnen Methoden im stationären Alltag beurteilt.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass die  $CCr_{KZM}$  eine bessere Übereinstimmung mit der CIn liefert als die  $CCr_{24-h}$  oder  $CCr_{Schw}$ .

- II. Der Vergleich von 3 verschiedenen Kreatinin-Bestimmungsmethoden (Jaffé von BöMa, Ektachem von Kodak und Creatinin plus von BöMa) und deren Auswirkung auf die drei o. g. GFR-Untersuchungsmethoden.

Ziel ist es, die Übereinstimmung mit der CIn zu optimieren.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass die Bestimmung mit Creatinin plus genauere Übereinstimmungen zeigt als mit Ektachem oder Jaffé.

## 3 Patienten und Methoden

### 3.1 Patienten

Im Zeitraum von Juni 1997 bis April 1998 wurde die Nierenfunktion von 27 pädiatrisch-nephrologischen Patienten in der Abteilung I des Zentrums für Kinderheilkunde der Universität Marburg untersucht.

#### 3.1.1 Profil

Das mediane Alter der 12 Mädchen und 15 Jungen betrug 14 Jahre, mit einer Streuung von 3-17 Jahren (Abb. 1). Die mediane GFR, gemessen als Single-Injection-Inulin-Clearance, ergab 71 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (20-141), das Serum-Kreatinin, bestimmt nach Jaffé, konsekutiv 1,05 (0,58-5,08) mg/dl (Abb. 2 + 3).

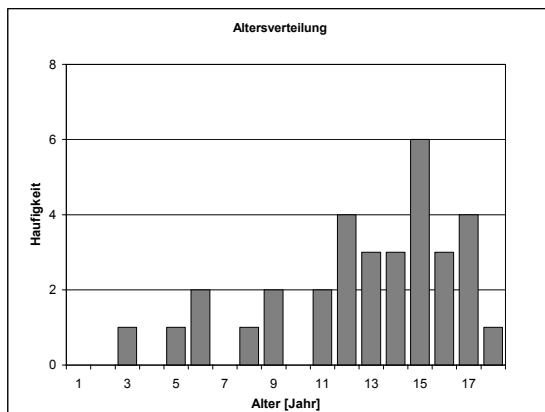


Abb. 1: Altersverteilung

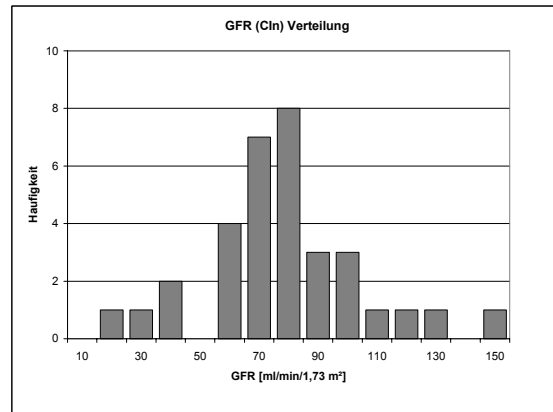


Abb. 2: GFR Verteilung, ermittelt durch Cln

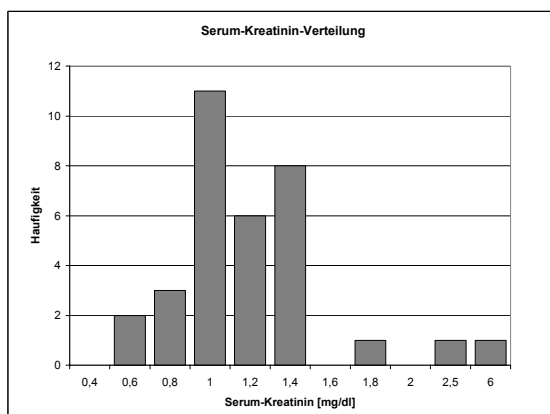


Abb. 3: Serum-Kreatinin-Verteilung  
bestimmt nach Jaffé

15 dieser Patienten wurden im Rahmen der nephrologischen Routinediagnostik (meist bei bekannter Nierenerkrankung wie Z.n. Nierentransplantation, bei Nephrotischem Syndrom, Z.n. Purpura-Schönlein-Hennoch oder anderen) untersucht.

12 Patienten hatten bekannte, teilweise genetisch entschlüsselte Salzverlust-Tubulopathien und wurden während einer unabhängigen zweiten Studie von Prof. Dr. H.W. Seyberth im Rahmen eines Indometacin-Auslassversuchs auf ihre Nierenfunktion hin überprüft. Bei drei Patienten war die Diagnose während der Studie nicht eindeutig gestellt.

Eine genaue Übersicht über die Studienpatienten liefert Tab. 15 im Anhang.

### **3.1.2 Einschlusskriterien**

- Patienten zwischen dem 3. und 18. Lebensjahr mit Nierenerkrankungen: z.B. chronische Niereninsuffizienz, Glomerulopathien, Z.n. Nierentransplantation, usw.
- Eine Inulin-Clearance muss aus medizinischen Gründen zur Diagnostik indiziert sein.

### **3.1.3 Ausschlusskriterien**

- Patienten, die nicht zur Mitarbeit an der zusätzlichen Urinsammlung oder Blutentnahme bereit oder in der Lage sind.
- Patienten mit inadäquater Hydratation (Ödeme, Exsikkose).
- Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Untersuchung kein „steady state“ der GFR besteht. Dies kann bedingt sein durch: Einnahme von nephrotoxischen Medikamenten, akuter Abstoßungsreaktion einer Transplantationsniere, stärkerer Ausprägung eines nephrotischen Syndroms u. ä..
- Patienten mit unvollständiger Blasenentleerung.
- Fehlende Einwilligung.

### **3.1.4 Erwachsene Probanden zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit**

An sechs jungen gesunden Erwachsenen im Alter von 25 bis 30 Jahren wurde das gesamte Studienprotokoll an zwei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Dabei handelte es sich um drei weibliche und drei männliche Probanden mit Serum-Kreatinin-Werten zwischen 0,9 und 1,15 mg/dl bestimmt nach Jaffé und einer GFR (CIn) zwischen 103 und 143 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Die Untersuchungen wurden auf der Dialyse-Station der Universitäts-Kinderklinik unter standardisierten Bedingungen durchgeführt.

Dabei sollte die Reproduzierbarkeit der verschiedenen Untersuchungsmethoden evaluiert werden.

### **3.2 Ethik**

Die Studie wurde im Juni 1997 der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg vorgelegt und im Juli 1997 bewilligt (Aktenzeichen 71/97).

Die gesetzlichen Vertreter der Probanden erhielten ein Informationsblatt sowie eine Teilnahmeerklärung zur Studie. Zusätzlich wurden sie mündlich über den Inhalt, den Nutzen und die Risiken der Studie aufgeklärt. Sie wurden darauf hingewiesen, dass alle Daten anonymisiert verarbeitet werden und dass sie jederzeit ohne Nennung von Gründen die Teilnahme an der Studie beenden können. Probanden über 16 Jahren erhielten zusätzlich ein Informationsblatt sowie eine Teilnahmeerklärung für Jugendliche. Die Teilnahmeerklärungen sowie die Informationsblätter finden sich im Anhang.

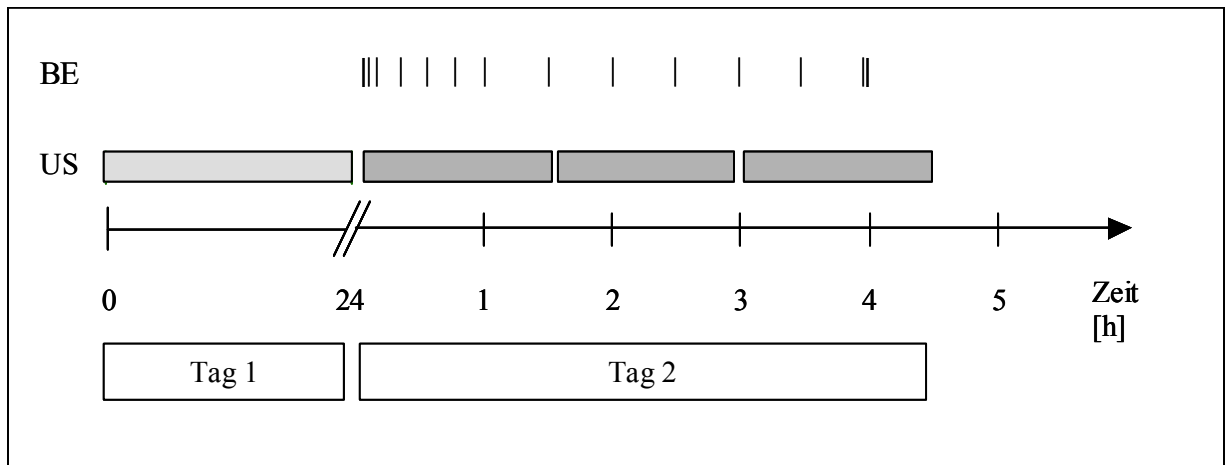
### **3.3 Studiendesign**

Bei allen Patienten wurde die GFR parallel auf folgende vier verschiedene Arten bestimmt:

- Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn) als *Referenzmethode*,
- 24-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>24-h</sub>),
- Kurz-Zeit-Clearance (CCr<sub>KZM</sub>) (zu evaluieren),
- Formelberechnung nach Schwartz (CCr<sub>Schw</sub>).

Das Studiendesign ist auf der folgenden Seite in Abb. 4 grafisch dargestellt.





BE = Blutentnahme über Verweilkanüle	schwarz: Single-Injection-Inulin-Clearance (C <sub>In</sub> )
US = Urin-Sammelperiode	hellgrau: 24-h-Kreatinin-Clearance (CCr <sub>24-h</sub> )
	dunkelgrau: zusätzliche Maßnahmen für die Kurz-Zeit-Methode (CCr <sub>KZM</sub> )

Abb. 4: Studienprotokoll

Jede Kreatinin-Bestimmung, die zur Berechnung der GFR herangezogen wurde, wurde parallel durch drei verschiedene, klinisch-chemische Methoden bestimmt:

- Jaffé (colorimetrisch, BöMa)
- Ektachem (trocken-enzymatisch, Kodak)
- Creatinin plus (nass-enzymatisch, BöMa)

Zur vereinfachten Schreibweise werden die Untersuchungsmethoden CCr<sub>24-h</sub>, CCr<sub>KZM</sub> und CCr<sub>Schw</sub> in Abhängigkeit der Kreatinin-Bestimmungsmethode folgendermaßen dargestellt:

	24-h-Kreatinin-Clearance	Kurz-Zeit-Clearance	Schwartz-Clearance
<b>Jaffé</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Jaffé)	CCr <sub>KZM</sub> (Jaffé)	CCr <sub>Schw</sub> (Jaffé)
<b>Ektachem</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Ektachem)	CCr <sub>KZM</sub> (Ektachem)	CCr <sub>Schw</sub> (Ektachem)
<b>Creatinin plus</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Creatinin plus)	CCr <sub>KZM</sub> (Creatinin plus)	CCr <sub>Schw</sub> (Creatinin plus)

Tab. 1: Verkürzte Schreibweise der neun untersuchten Methoden

Die Methoden sind in den folgenden Kapiteln näher beschrieben.

### 3.4 Methodik der GFR-Bestimmung

#### 3.4.1 Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn) – Referenzmethode

##### 3.4.1.1 Material

- 1 Ampulle Inutest<sup>®</sup> 25%, Wirkstoff: Sinistrin
- 1 Spritze à 20 ml
- 1 Venenverweilkatheter (mind. 22 Gauge, entspr. 0,8 mm)
- 1 Drei-Wege-Hahn
- 1 Butterfly (20 Gauge, entspr. 1 mm)
- 12 EDTA-Monovetten (3,2 ml)
- 12 Spritzen à 2 ml
- 12 rote Verschlusskappen

##### 3.4.1.2 Untersuchungsablauf

###### *Vorbereitung des Patienten:*

Das Ziel während der Untersuchung ist es, die GFR so konstant wie möglich zu halten. Dafür sollen die Patienten morgens ein proteinarmes Frühstück zu sich nehmen, um nicht die funktionelle Reserve zu aktivieren. Außerdem soll durch orale Hydrierung von etwa 20 ml/h/kg Körpergewicht eine Stunde vor Untersuchungsbeginn ein konstanter kräftiger renaler Plasmafluss erreicht werden. Um keine GFR-Schwankungen durch orthostatische Regulationsmechanismen zu erfahren, sollen die Kinder eine Stunde vor sowie während der gesamten Untersuchung Bettruhe einhalten.

Vor Beginn der Untersuchung wird eine Venenverweilkanüle angelegt, die einen sicheren Blutrückfluss für die folgenden Blutentnahmen gewährleistet.

###### *Untersuchung:*

Während der Untersuchung wird die orale Hydrierung auf 5 ml/h/kg KG reduziert.

Kurz vor der Inulin-Applikation werden 2 ml EDTA-Vollblut zur Ermittlung des Nullwertes der Inulin-Bestimmung über die Venenverweilkanüle abgenommen.

Anschließend folgt nach Punktion einer kontralateralen Armvene die langsame i. v.-Applikation von 9 ml/m<sup>2</sup> Körperoberfläche (KOF) Inutest<sup>®</sup> 25% über eine Minute. Die KOF berechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{KOF [m}^2\text{]} = \sqrt{\frac{\text{Länge[cm]} \times \text{Gewicht[kg]}}{3600}} \quad (5)$$

In Abständen von 3, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 Minuten post injectionem werden je 2 ml EDTA-Vollblut abgenommen und spätestens 2 Stunden danach weiter verarbeitet (siehe Inulin-Analytik Kap. 3.5.2.2).

Entscheidend für die anschließende PC-gestützte Berechnung der Daten, ist die genaue Dokumentation des Zeitpunktes der Inulin-Applikation (Zeitpunkt 0 min., s. Anhang) sowie der folgenden Blutentnahmen. Das heißt, bei Nicht-Einhalten der o. g. Soll-Zeiten müssen die Ist-Zeiten minutengenau dokumentiert werden.

### 3.4.1.3 Auswertung

Die Berechnung erfolgte nach dem von Sapirstein LA et al. (1955) vorgeschlagenen 2-Kompartimentmodell, bei welchem die Plasma-Eliminationskurve in zwei monoexponentielle Funktionen, die Distributions- und die Verteilungsphase, aufgelöst wird. Der cut-off-point zwischen den Phasen liegt bei 60 min. Nach Sapirstein wird die  $C_{In}$  folgendermaßen berechnet:

$$C_{In} [ml/min] = \frac{\text{injizierte Dosis}}{\text{Integral der Verteilungsphase} + \text{Integral der Eliminationsphase}} \quad (6)$$

Die Berechnung in Analogie dazu lautet:

$$C_{In} = \frac{D_o}{\frac{c_1}{b_1} + \frac{c_2}{b_2}} \quad (7),$$

wobei  $D_o$  die injizierte Dosis,  $b$  das konstante Verhältnis von  $\ln 2/T_{1/2}$  und  $c$  der Achsenabstand auf der logarithmischen Ordinate der monoexponentiellen Kurven ist (siehe Beispiel Patient 45, Abb. 5).

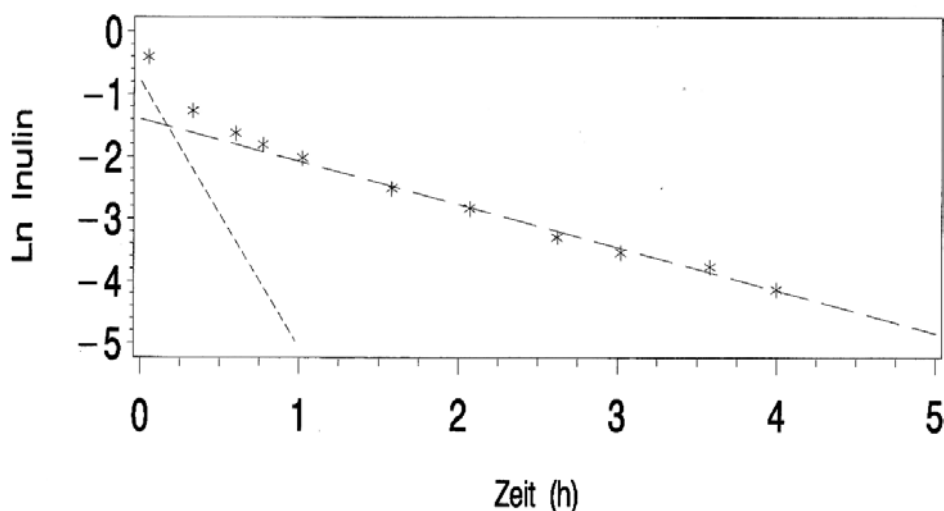


Abb. 5: Beispiel eines Inulin-Konzentrationsverlaufes bei Patient 45 mit guter Nierenfunktion: GFR 141 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

Die Berechnung erfolgte mit dem 1992 von Gretz und Mitarbeitern veröffentlichten Computerprogramm auf der Basis des SAS Anwendersystems (SAS Inc., North Carolina, Version 5.18) (Gretz N et al. 1989).

### 3.4.2 24-h-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>24-h</sub>)

Zur Berechnung der CCr<sub>24-h</sub> sind eine Blutentnahme und ein 24-h-Sammelurin nötig.

Die Sammlung des Urins wird begonnen mit dem Entleeren der Blase und Verwerfen dieses Urins zu einem definierten Zeitpunkt. Anschließend wird über 24 Stunden der Urin gesammelt. Damit die Stabilität des Kreatinins gesichert ist, muss der Urin kühl (ca. 8 °C) und luftdicht verschlossen gelagert werden.

Sammelmenge (V<sub>U</sub> [ml]), Sammeldauer (t [min]), Körperoberfläche (KOF [m<sup>2</sup>]) sowie die Kreatinin-Konzentrationen von Urin und Serum (U<sub>Cr</sub>, P<sub>Cr</sub> [mg/dl]) werden in die bekannte Formel (3), modifiziert für Kreatinin, eingesetzt:

$$\frac{V_U \times U_{Cr} \times 1,73 \text{ m}^2}{t \times P_{Cr} \times KOF \text{ [m}^2\text{]}} = GFR \text{ [ml/min/1,73 m}^2\text{]} \quad (8)$$

### 3.4.3 Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>KZM</sub>)

Die zu evaluierende CCr<sub>KZM</sub> wird als 3 × 90 min. Kreatinin-Clearance durchgeführt.

Dreimal aufeinander folgend wird über 90 min. Urin gesammelt und analog zur CCr<sub>24-h</sub> die Kreatinin-Konzentration und die Sammelmenge bestimmt. Bei exakter Dokumentation sind geringe Abweichungen der Sammeldauer unproblematisch.

Die GFR wird für jede einzelne Sammelperiode nach Formel (6) berechnet. Aus diesen drei Werten wird anschließend der Mittelwert gebildet. Um genauere Serum-Kreatinin-Werte zu erlangen, wird am Anfang und am Ende der Untersuchung eine Blutprobe entnommen und der Mittelwert der beiden Kreatinin-Konzentrationen für die Berechnung verwendet.

Für eine ausreichende Hydrierung ist durch die parallel durchgeführte CIn gesorgt. Mindestens eine Stunde vor Beginn der Untersuchung müssen die Kinder 20 ml/h/kg KG Mineralwasser trinken. Während der Untersuchung wird die Menge auf 5 ml/h/kg KG reduziert. Die Urinsammlung erfolgt unter stationären Bedingungen und soll so die größte Fehlerquelle der CCr<sub>24-h</sub>, die falsche Sammlung, eliminieren. Der Urin wird kühl und luftdicht bis zum Ende der Untersuchung aufbewahrt und dann zur sofortigen klinisch-chemischen Bestimmung weitergeleitet.

Die Patienten müssen eine Stunde vor und während der gesamten Untersuchung, analog zur CIn, Bettruhe einhalten, um die orthostatischen Einflüsse möglichst gering zu halten.

#### 3.4.4 GFR-Bestimmung nach Schwartz ( $CCr_{Schw}$ )

Im Gegensatz zu den beiden ersten Methoden ist die  $CCr_{Schw}$  urinunabhängig. Zur Bestimmung der  $CCr_{Schw}$  sind nur eine Serum-Kreatinin-Bestimmung und die Messung der Körperlänge mittels eines geeichten Stadiometers nötig. Die Konstante  $k$  drückt den Proportionalitätsfaktor zwischen Körperlänge und Muskelmasse aus. Schwartz unterscheidet zwei große konstitutionelle Gruppen:

- I. Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj. und  
Mädchen bzw. junge Frauen vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,55$
- II. Jungen bzw. junge Männer vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,7$

Die GFR berechnet sich nun durch Einsetzen der Konstanten  $k$  entsprechend der o. g. Kriterien, der Körperlänge ( $L$  [cm]) und des Serum-Kreatinins ( $P_{Cr}$  [mg/dl]) in Formel (4):

$$GFR [ml/min \times 1,73m^2] = \frac{k \times L}{P_{Cr}} \quad (4).$$

##### 3.4.4.1 Ermittlung einer klinikspezifischen Konstanten $k$ zur Optimierung der Schwartz-Formel

Die Konstanten  $k$  von Schwartz (0,55 und 0,7, s. o.) wurden mittels linearer Regression an den Patientenkollektiven von Schwartz bestimmt. Das bedeutet, die Konstanten sind spezifisch für sein damaliges Patientenkollektiv, für die Klinik und die damals verwendete Kreatinin-Bestimmungsmethode.

In einer eigenen Regressionsanalyse soll in dieser Studie eine Optimierung der Konstanten  $k$  erreicht werden, um bessere Übereinstimmungen mit der Referenzmethode CIn zu erhalten.

Die lineare Regression erfolgt als Funktion von CIn, aufgetragen gegen  $L/P_{Cr}$ .

Die Regressionsgerade wird durch den Ursprung des Koordinatensystems gelegt, so dass die Konstante  $k$  als Steigung der Geraden direkt abzulesen ist. Es ergibt sich die Formel:

$$f(CIn) = k \times L/P_{Cr} \quad (9).$$

Entsprechend dem Vorschlag von Schwartz wurden auch hier die untersuchten Studienpatienten in zwei Gruppen stratifiziert:

- I. Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj. und  
Mädchen bzw. junge Frauen vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,55$
- II. Jungen bzw. junge Männer vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,7$

Für die drei verwendeten Kreatinin-Bestimmungsmethoden (Jaffé, Ektachem, Creatinin plus) wurden getrennte Analysen durchgeführt.

### **3.4.5 GFR-Bestimmung durch Cystatin C**

Cystatin C wird direkt aus dem Serum oder Plasma bestimmt und in [mg/l] angegeben. Die Konzentration kann nun in Beziehung zu Referenzwerten gesetzt werden, oder direkt in die GFR durch folgende Formel nach Filler G et al. (2003) umgerechnet werden.

$$\log(\text{GFR}) = 1,962 + [1,123 \times \log(1/\text{Cystatin C})] \quad (10)$$

## **3.5 Inulin-Analytik**

### **3.5.1 Material und Geräte**

#### **3.5.1.1 Enzyme**

Boehringer Mannheim, Mannheim

- Testkombination zur D-Glukose-D-Fructose-Bestimmung
- Glucose-Oxidase (GOD: ca. 250 U/mg) aus *Aspergillus Niger*, Reinheitsgrad I

Novo Industrie, Dänemark

- Novozym 230

#### **3.5.1.2 Weitere Chemikalien**

Merck, Darmstadt; Carl Roth GmbH, Karlsruhe

#### **3.5.1.3 Geräte**

Spektralphotometer Hitachi

### 3.5.2 Methode

Inulin ist ein stärke-artiges Polysaccharid, bestehend aus ca. 30  $\beta$ -2,4-glycosidisch verknüpften Fructoseeinheiten. Es kommt als natürliches Reservekohlenhydrat in verschiedenen Pflanzen, z. B. der Zichorie, vor und hat ein MW von 5 kD. Als Ersatz für das natürlich vorkommende Inulin wurde das synthetisch hergestellte Sinistrin verwendet. Dieses Polyfructosan besteht aus durchschnittlich 18 Fructoseeinheiten mit einem mittleren Molekulargewicht von etwa 3 kD.

Die Bestimmung erfolgte nach dem Vorschlag von Kühnle et al. (Kuehnle HF et al. 1992) durch eine vollenzymatische Methode ohne Deproteinisierung.

Zunächst muss das Polyfructosan in seine Fructose-Bestandteile aufgespaltet werden. Dieser hydrolytische Abbau erfolgt durch eine Inulinase (Novozym).

Die folgenden enzymatischen Schritte sind eine Aneinanderreihung von physiologischen Abläufen innerhalb der Glycolyse und des Hexosemonophosphat-Weges der menschlichen Zelle.

Dabei werden die entstandenen Fructose-Einheiten aus dem Inulinase-Schritt mittels Hexokinase (HK) unter Verbrauch von ATP zu Fructose-6-Phosphat phosphoryliert und weiter mit Phospho-Glycerol-Isomerase (PGI) zu Glucose-6-Phosphat isomerisiert. Im letzten Reaktionsschritt wird dieses mit Hilfe von Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH) unter Reduktion von NADP zu NADPH<sub>2</sub> zu 6-Phospho-Gluconolacton oxidiert.

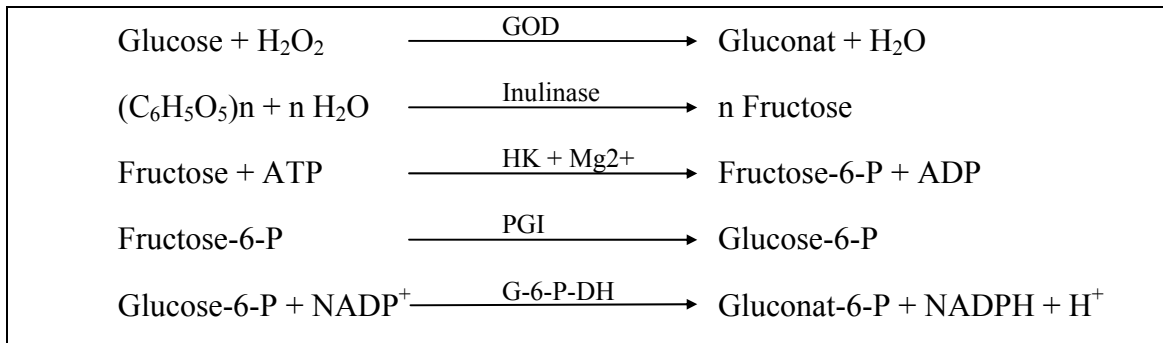
Die Reduktion des NADP zu NADPH kann quantitativ photometrisch bei 365 nm gemessen werden und verhält sich zur vorhandenen Fructosemenge proportional.

Ein Problem stellt die physiologische Serum-Glucose dar. Diese wird durch die enzymatische Inulin-Bestimmungsmethode, die D-Glucose und D-Fructose nicht unterscheiden kann, verfälschend mitbestimmt.

Auf die getrennte Bestimmung der nativen Serum-Glucose kann jedoch verzichtet werden, indem sie mittels Glucose-Oxidase (GOD) und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidiert und so für die enzymatische Bestimmung des Inulins „unsichtbar“ gemacht wird.

Da die Oxidation der Serum-Glucose bei gleichem pH-Wert erfolgt wie die Hydrolyse des Inulins, können die Reaktionen im gleichen Puffergemisch parallel ablaufen.

Die Reaktionsabläufe sind in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:



**Abb. 6: Reaktionsabläufe der Inulin-Bestimmung**

### 3.5.2.1 Lösungen und Inkubationsmedien

a) Citratpuffer 0,2 M, pH 5,0 (50 ml Lösung I + 120 ml Lösung II)

Lösung I: 4,2 g Zitronensäure (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> × H<sub>2</sub>O) + Aqua. dest. ad 100 ml

Lösung II: 11,76 g Natriumcitrat (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub> × 2 H<sub>2</sub>O) + Aqua. dest. ad 200 ml

b) Testkombination zur D-Glucose-/D-Fructose-Bestimmung:

Flasche I (TRA-Puffer, MgSO<sub>4</sub>, NADP, ATP): in 80 ml H<sub>2</sub>O lösen

Flasche II + III (HK, G-6-PDH, PGI): im Verhältnis 1:1 mischen

c<sub>1</sub>) Inkubationsmedium I:

Citratpuffer 0,2 M, pH 5,0: 20,0 ml

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%): 0,2 ml

c<sub>2</sub>) Inkubationsmedium II:

Citratpuffer 0,2 M, pH 5,0: 40,0 ml

GOD: 20,0 mg

Novozym: 0,8 ml

### 3.5.2.2 Durchführung der Bestimmung

Je nach Clearance-Dauer (4, 12 od. 24 h) werden 12 bis 15 EDTA-Blutproben direkt nach Entnahme zentrifugiert und der Überstand zur Bestimmung gewonnen.

Für den Reaktionsansatz werden 2 × 100 µl pro Probe benötigt. Die Bestimmung erfolgt als Doppelbestimmung.

Die Plasma-Konzentrationen bewegen sich in einer Streuung von ca. 1 mg/ml bis 0,01 mg/ml.

Die ersten beiden Plasmen nach Inulin-Applikation werden 1:2 mit Aqua. dest. verdünnt, da sie sonst Inulin-Konzentrationen von über 0,5 mg/ml enthielten. Dies würde zu Extinktionen von über 0,6 führen und somit nicht mehr im optimalen Messbereich des Photometers liegen.



*Oxidation und Hydrolyse:*

- 100 µl Probe werden in einen Eppendorfcup vorgelegt;
- 100 µl Inkubationsmedium I und
- 200 µl Inkubationsmedium II werden der zu messenden Probe zugesetzt.
- Der Reaktionsansatz wird in einem Eppendorf-Mixer gemischt und 60 min in einem 37°C-Wasserbad inkubiert:

*Bestimmung der Fruktose:*

- 1,0 ml Pack-Puffer werden in den Inkubationsansatz gegeben, gut gemischt und in eine Halb-Microküvette überführt,
- bei 365 nm wird die Extinktion E I gemessen,
- 20 µl des Enzymgemischs (Flasche 2 + 3) werden der Küvette zugesetzt,
- nach mischen mit einem Rührspatel wird 30 min bei Zimmertemperatur erneut inkubiert,
- bei 365 nm wird die Extinktion E II gemessen:

Die Differenz zwischen E II und E I ergibt die Extinktionszunahme, die proportional zur Reduktion des NADP zu NADPH und somit auch der Glucose ist. Um eventuelle Fehler, wie z. B. die Trübung des Reaktionsgemisches durch das Enzymgemisch, zu eliminieren (Flasche 2 + 3 enthalten jeweils Suspensionen), wird von allen berechneten Proben die Extinktions-Differenz (E II - E I) des Probenleerwertes subtrahiert.

Die Umrechnung der ermittelten Extinktionen in die tatsächliche Konzentration erfolgt mit dem in Vorversuchen (s. Kap. 3.5.3.1) ermittelten Konzentrations-Koeffizienten k:

$$(E_{II_{\text{Probe}}} - E_{I_{\text{Probe}}}) - (E_{II_{\text{Leerwert}}} - E_{I_{\text{Leerwert}}}) \times k = \text{Proben-Konzentration [mg/ml]}.$$

### 3.5.3 Evaluation der klinisch-chemischen Inulin-Bestimmung

#### 3.5.3.1 Ermittlung des Konzentrations-Koeffizienten k und Herstellung von Kontrollen

Die Ermittlung des Konzentrationskoeffizienten k erfolgte durch Erstellen und Mitteln von acht Standardkurven an acht verschiedenen Tagen, jeweils in Doppelbestimmung.

Es wurden folgende Inulin-Konzentrationen in Verdünnungsreihen getrennt und täglich neu hergestellt:

- 1,0 mg/ml
- 0,5 mg/ml
- 0,1 mg/ml

Die somit als bekannt vorausgesetzten Konzentrationen konnten, wie in Tab. 2 dargestellt, gegen die gemessene Extinktion aufgetragen werden.

Durch Regression der drei Punkte wird eine lineare Funktion dargestellt, die durch den Punkt (0/0) extrapoliert wird. Es ergibt sich folgende Gleichung:  $f(x) = a \cdot x + 0$ .

Der Kehrwert der Steigung (a) liefert den Konzentrations-Koeffizienten k.

Beispiel einer Standardkurve:

Konz [mg/ml]	Extinktion
1,0	1,472
0,5	0,718
0,1	0,138
Reg.-Steigung (a)	1,4641
Kehrwert (1/a) = k	0,6830

Tab. 2: Regression Konz.-Koeff.

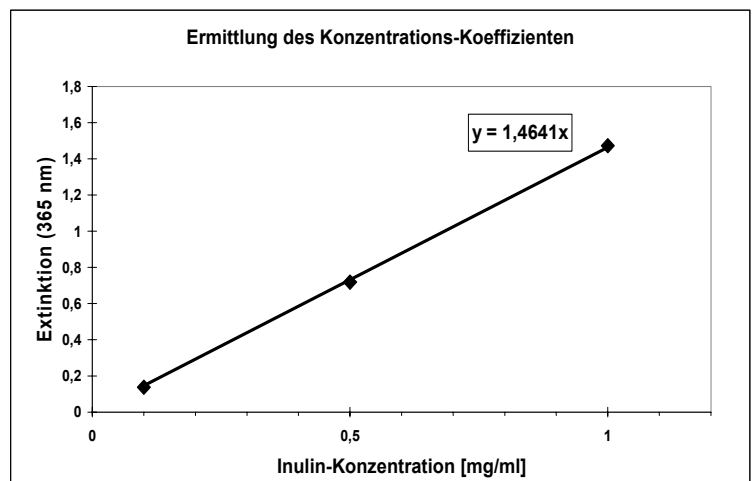


Abb. 7: Lineare Regression des Konz.-Koeff.

Zusätzlich wurde der Probenleerwert ebenfalls doppelt bestimmt.

Am letzten Testtag wurden die Standards in größeren Mengen hergestellt und nach erfolgreicher Bestimmung in Eppendorfcups als zukünftige Kontrollen bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Die Ergebnisse von acht Testtagen, die den Konzentrations-Koeffizienten von 0,6762 ergaben, sind in folgender Tabelle (Tab. 3) und Grafik (Abb. 8) dargestellt:

Messreihe	k
I	0,6707
II	0,6770
III	0,7015
VI	0,6830
V	0,6612
VI	0,6494
VII	0,6888
VIII	0,6782
$\bar{M}$	0,6762

Tab. 3: Konz.-Koeff. Inu-Test

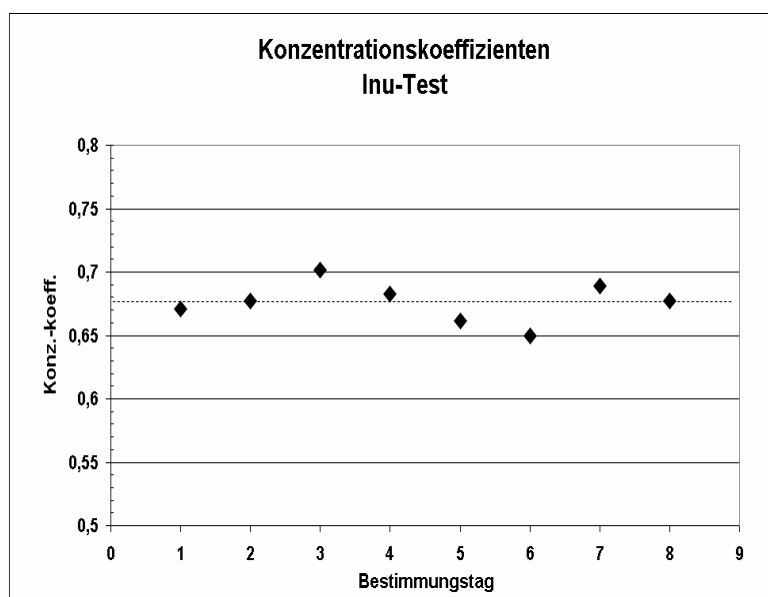


Abb. 8: Ermittlung des Konzentrations-Koeffizienten k

### 3.5.4 Qualitätskontrolle

#### 3.5.4.1 Präzision

Die Präzision dient der Erfassung zufälliger, somit unvermeidbarer Fehler und erfolgt durch Präzisionskontrollen bei jeder Analyse.

Die zufälligen (unsystematischen) Fehler entstehen z.B. durch Abweichungen von Ansaugvolumina bei manueller Bestimmung, durch variable Inkubationstemperaturen u. ä. Bei dieser Art der Qualitätskontrolle kann die exakte Konzentration der Kontrollprobe unbekannt sein, im Blickpunkt steht ausschließlich die Abweichung von Messung zu Messung, also ein Maß der Streuung um einen undefinierten Punkt.

In einem Vorversuch wurden an zehn Tagen je eine hohe und eine niedrige Kontrollprobe (1,0 mg/ml und 0,1 mg/ml) bestimmt und daraus Mittelwert ( $\bar{M}$ ) und Standardabweichung (SD) berechnet.

Die Werte wurden auf einer sog. Kontrollkarte aufgetragen und die 2-fache sowie die 3-fache SD im positiven wie auch im negativen Bereich eingezeichnet. Diese Grenzen dienen als „Warngrenzen“ (2 SD) oder als „Kontrollgrenzen“ (3 SD) für die zukünftigen Messungen.

In allen folgenden Analysen wurden Präzisionskontrollen mitbestimmt, die in die Kontrollkarte eingetragen wurden und so eine Einschätzung der Methode ermöglichten. Eine Methode war per Definition außer Kontrolle, wenn eine Präzisionskontrolle außerhalb der 3-fachen SD bestimmt wird.

Als direktes Maß für die Streubreite einer Methode dient der Variations-Koeffizient (VK); er wird wie folgt errechnet:

$$VK [\%] = \frac{SD \times 100}{MW} \quad (11)$$

Die Variations-Koeffizienten betrugen für die Hochkontrolle 3,25%, für die Niedrigkontrolle 3,34%. Sie entsprachen damit den Richtlinien der Bundesärztekammer, die für Methoden mit hoher Präzision einen Grenzwert von 5% festgelegt hat. Das heißt, obwohl es sich hier um eine Handmethode handelte, entsprach die Präzision der von Autoanalysermethoden.

Die Kontrollkarten des Vorversuchs sind für die Hochkontrolle in Abb. 9 und die Niedrigkontrolle in Abb. 10 dargestellt:

<b>Sollwert [mg/ml]</b>	<b>1,00</b>
Mittelwert	1,01
Standardabweichung	0,03
Variationskoeffizient (%)	3,25
obere Kontrollgrenze	1,11
obere Warngrenze	1,07
untere Warngrenze	0,94
untere Kontrollgrenze	0,91

Tab. 4: Präzision Inulin (hoch)

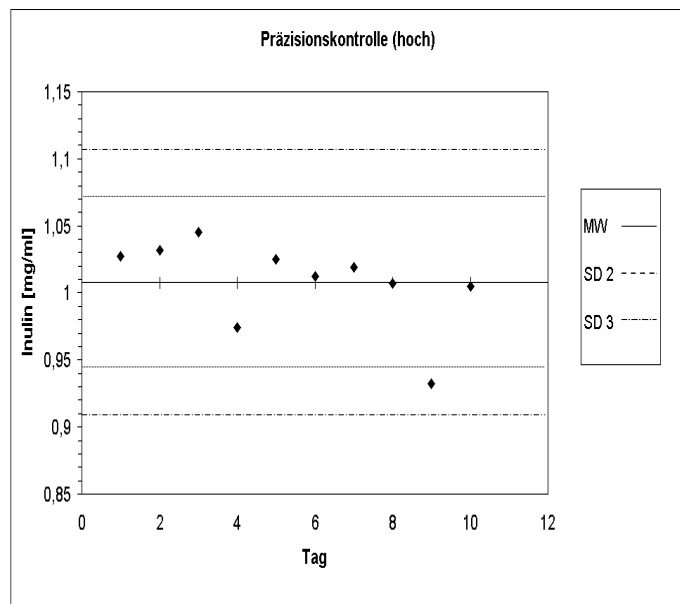


Abb. 9: Präzisionskontrolle (hoch)

<b>Sollwert [mg/ml]</b>	<b>0,10</b>
Mittelwert	0,103
Standardabweichung	0,003
Variationskoeffizient (%)	3,34
obere Kontrollgrenze	0,113
obere Warngrenze	0,110
untere Warngrenze	0,096
untere Kontrollgrenze	0,092

Tab. 5: Präzision Inulin (niedrig)

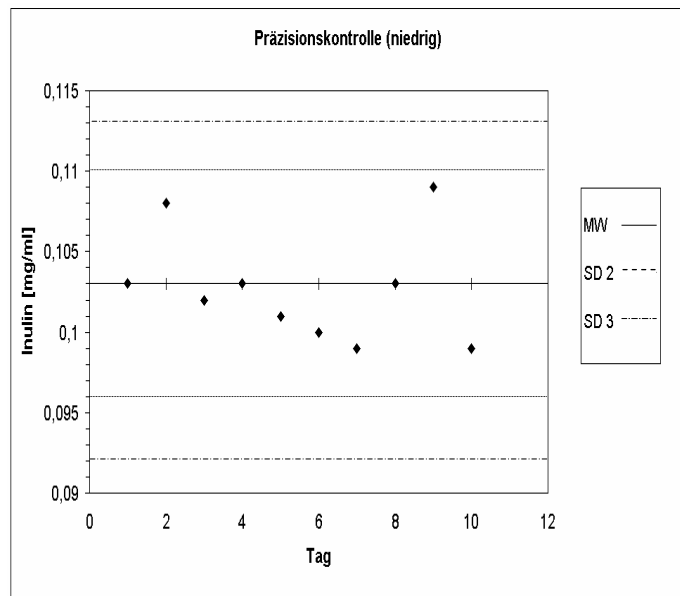


Abb. 10: Präzisionskontrolle (niedrig)

### 3.5.4.2 Richtigkeit

Im Gegensatz zur Präzisionskontrolle, die der Erfassung von unsystematischen (unvermeidbaren) Fehlern dient, deckt die Richtigkeitskontrolle systematische (vermeidbare) Fehler auf.

Solche Fehler können sein: Eichfehler an Messgeräten, Abnahme der Intensität von Photometerleuchten, abweichende Wellenlängen, falsche Inkubationstemperaturen u. a. – also Fehler, die eine gesamte Analysereihe gleichermaßen zu hoch oder zu niedrig bestimmen lassen.

Bei dieser Art der Qualitätskontrolle ist nicht mehr die Streubreite um einen undefinierten Punkt entscheidend, sondern die exakte Bestimmung der tatsächlichen Konzentration der Kontrollprobe.

In der Routinediagnostik werden Richtigkeitskontrollen meist von Test-Kit-Herstellern angeboten; im Fall der Inulin-Bestimmung kann nur anhand von selbst hergestellten Lösungen die Qualitätskontrolle durchgeführt werden.

Da die Präzisionskontrollen, die bei jeder Inulin-Bestimmung mit durchgeführt werden, in genauen Konzentrationen hergestellt und mehrmals gemessen sind, kann man diese zur internen Richtigkeitskontrolle heranziehen.

In den Vorversuchen zur vorliegenden Arbeit lag die Abweichung vom Ist-Wert der Hochkontrolle im Durchschnitt bei 1%, für die Niedrigkontrolle bei 3%. Somit entsprach auch die Richtigkeitskontrolle den Anforderungen von Autoanalysermethoden.

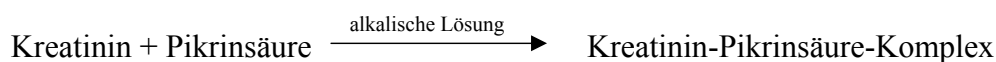
### **3.6 Kreatinin-Analytik**

#### **3.6.1 Kreatinin-Bestimmung nach Jaffé**

- Kreatinin Jaffé-Methode, rate-blanked
- Hersteller: Boehringer-Mannheim
- Bestellnummer: 1875418
- Gerät: Autoanalyser Hitachi 917

##### **3.6.1.1 Testprinzip**

Bei alkalischem pH bildet Kreatinin mit Pikrat einen Kreatinin-Pikrinsäure-Komplex, der zu einer photometrisch messbaren Orange-Färbung führt:



Die Extinktion ist in geeigneten Grenzen der Kreatinin-Konzentration direkt proportional. Um die Störung durch Bilirubin zu minimieren, wird das so genannte „rate-blanked“-Verfahren eingesetzt. Dies ist eine 2-Schritt-Reaktion, bei der in der ersten

kinetischen Messung zur Analyse-Probe Natronlauge zugeführt wird, um die Gelbfärbung durch Bilirubin zu messen. In einem zweiten Schritt wird Pikrinsäure zugegeben und die Gelbfärbung durch das Kreatinin bestimmt. Zum Schluss wird die erste Absorption (Blank - Leerwert) von der zweiten Absorption subtrahiert.

### 3.6.1.2 Referenzwerte

(nach Thomas; Labor und Diagnose, 1995)

- Männer: 0,67 – 1,36 mg/dl
- Frauen: 0,57 – 1,17 mg/dl
- Kinder: 2. – 6. Lj. 0,28 – 0,72 mg/dl  
               7. – 13. Lj. 0,30 – 1,00 mg/dl  
               14. – 17. Lj. 0,26 – 1,20 mg/dl

### 3.6.1.3 Qualitätskontrolle

Das Zentrallabor der Universität Marburg ist Referenzlabor für Kreatinin in Serum und Urin.

*Präzisionskontrollen:*

Serum-Kreatinin – Variationskoeffizienten:	Hochkontrolle:	1,94%
	Niedrigkontrolle:	2,62%
Urin-Kreatinin – Variationskoeffizienten:	Hochkontrolle:	3,00%
	Niedrigkontrolle:	2,32%

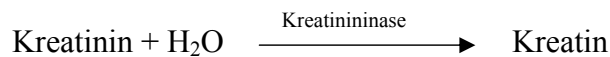
## 3.6.2 Kreatinin-Bestimmung mit Ektachem

- Kit: Vitros CREA-Analyseplättchen
- Hersteller: Johnson – Johnson, Neckargemünd
- Bestellnummer: CAT 8212763
- Gerät: Autoanalyser Kodak 250

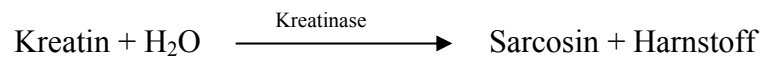
### 3.6.2.1 Testprinzip

Ektachem ist eine trocken-enzymatische single-slide-Methode als Zweipunkt-Kinetik. Die aufgetragene Probe durchläuft folgende Reaktionsschritte auf dem Analyseplättchen:

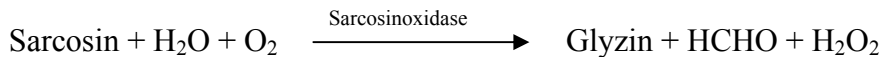
1. Kreatininase hydrolisiert Kreatinin zu Kreatin:



2. Kreatinase hydrolisiert Kreatin zu Sarcosin:

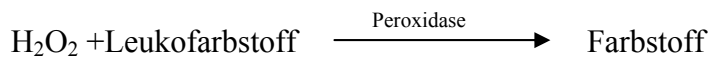


3. Sarcosin wird mittels Sarcosinoxidase zu Glyzin, Formaldehyd und Wasserstoffperoxid, bei Anwesenheit von Luftsauerstoff, oxidiert:



4. Wasserstoffperoxid reagiert mit einem Leucofarbstoff zu einem gefärbten

Reaktionsprodukt. Die Reaktion wird durch Peroxidase katalysiert:



Die Farbzunahme wird als Zweipunkt-Kinetik nach 3,85 min. und 5 min. photometrisch bei 670 nm gemessen und ist der Kreatinin-Konzentration direkt proportional.

### 3.6.2.2 Referenzwerte

Abteilung Klinische Chemie Universitätsklinik Marburg

- Männer: 0,55 – 1,10 mg/dl
- Frauen: 0,47 – 0,90 mg/dl
- für Kinder sind keine Referenzwerte bekannt

### 3.6.2.3 Qualitätskontrolle

*Präzisionskontrollen:*

Serum-Kreatinin – Variationskoeffizienten:	Hochkontrolle:	1,05%
	Niedrigkontrolle:	1,05%
Urin-Kreatinin – Variationskoeffizienten:	Hochkontrolle:	4,65%
	Niedrigkontrolle:	2,19%

*Richtigkeitskontrolle:*

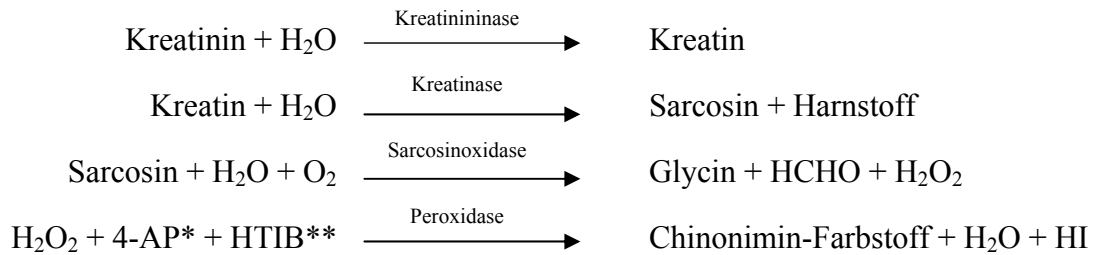
Serum-Kreatinin – Variationskoeffizient: 1,18%

### 3.6.3 Kreatinin-Bestimmung mit Creatinin plus

- Hersteller: Boehringer-Mannheim
- Bestellnummer: 1775685
- Gerät: Autoanalyser Hitachi 917

### 3.6.3.1 Testprinzip

Enzymatischer Farbstest als nasschemische vollautomatische Autoanalysermethode. Die einzelnen Reaktionsschritte sind ähnlich der Ektachem-Methode. In einem ersten Reaktionsschritt wird endogenes Kreatin metabolisiert und lipämisches Serum geklärt. Im zweiten Schritt erfolgt die Bestimmung des Kreatinins nach folgendem Reaktionsablauf:



\* 4-Aminophenazon

\*\* 2,4,6 Trijodid-3 Hydroxibenzoesäure

Der entstandene Chinonimin-Farbstoff ist direkt proportional zur Kreatinin-Konzentration und kann direkt photometrisch bei gemessen werden.

### 3.6.3.2 Referenzwerte

- Männer: 0,5 – 1,1 mg/dl
- Frauen: 0,5 – 0,9 mg/dl
- für Kinder sind keine Referenzwerte bekannt

### 3.6.3.3 Qualitätskontrolle

Die Reproduzierbarkeit wurde durch gepooltes Humanserum und Kontrollen (Precinorm® U, BöMa) bestimmt. Dabei wurden an 21 aufeinander folgenden Tagen Dreifach-Bestimmungen durchgeführt. Folgende VK konnte ermittelt werden:

- Humanserum ( $\bar{M} = 1,54 \text{ mg/dl}$ ): VK = 0,91%
- Precinorm® U ( $\bar{M} = 1,61 \text{ mg/dl}$ ): VK = 0,76%

### 3.6.3.4 Korrelationsbestimmungen mit Creatinin plus und anderen Methoden

- Creatinin plus zu gaschromatographischer Massenspektrometrie (ID-GC/MS)  
(Serum-Kreatinin):  $r = 1,00$ ;  $f(x) = 1,01 x - 0,99$
- Creatinin plus zu HPLC (Serum-Kreatinin):  $r = 0,998$ ;  $f(x) = 1,062 x - 0,031$



- Creatinin plus zu HPLC (Serum-Kreatinin + Cyclosporin A):

$$r = 1,00; 1,01 \times + 1,59$$

Der Test hat u. a. besondere Vorteile bei nephrologischen Patienten durch die geringe Störunanfälligkeit durch Triglyzeride bis zu Konzentrationen von 1100 mg/dl.

### 3.7 Cystatin-C-Analytik

- Kit: N Latex Cystatin C
- Hersteller: Dade Behring, Liederbach
- Bestellnummer: OQNM 15

#### 3.7.1 Testprinzip

Die quantitative Cystatin-C-Bestimmung aus Serum oder Plasma erfolgt durch Latexpartikel-verstärkte Immunnephelometrie.

#### 3.7.2 Referenzwerte

Nach (Erlandsen EJ et al. 1998) für Erwachsene, nach Bökenkamp et al. (1998, 1999) für Kinder:

- |                             |   |
|-----------------------------|---|
| – Erwachsene:               | 0,54 – 1,21 mg/l                            |
| – Kinder: erste Lebensstage | 1,64-2,59 mg/l                              |
| 1. – 18. Lj.                | 0,7 – 1,38 mg/l (1998)                      |
| 1. – 18. Lj.                | 0,63 – 1,26 mg/l (1999, neue Kallibratoren) |

Die Firma Dade-Behring gibt folgende Referenzwerte an:

- |              |                  |
|--------------|------------------|
| – Erwachsene | 0,56 – 0,96 mg/l |
|--------------|------------------|

#### 3.7.3 Qualitätskontrolle

Präzisionskontrollen: VK 2,0 – 3,2%

### 3.8 Statistik

Die statistischen Berechnungen erfolgten durch Korrelationen und deren 95%-Konfidenzintervallen nach z-Transformation sowie durch lineare Regression. Diese Kriterien

beschreiben den Zusammenhang der verschiedenen Methoden. Es sei bereits hier darauf hingewiesen, dass Korrelationen und Regressionen keineswegs die Übereinstimmungen zweier Methoden beschreiben. Hierfür wurden in der vorliegenden Arbeit Bland&Altman-Plots verwendet. Nur in diesen grafischen Darstellungen werden Übereinstimmungen zweier zu vergleichender Methoden sinnvoll beschrieben (Bland JM et al. 1986).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Kreatinin-Bestimmungen

Bei jedem Patienten wurde aus zwei Blutproben das Kreatinin auf drei verschiedene Weisen bestimmt (Jaffé, Ektachem, Creatinin plus). Serum I wurde am Anfang, Serum II am Ende der CIn abgenommen. Daraus ergeben sich sechs Serum-Kreatinin-Werte pro Patient. Die Mittelwerte für diese sechs Bestimmungen aller Patienten sind in Abb. 11 dargestellt.

Im Mittel waren die mit Ektachem bestimmten Serum-Kreatinin-Konzentrationen von Serum I und II gleich. Die Werte der Jaffé- und Creatinin-plus-Methode waren für Serum I um 0,02 mg/dl höher als für Serum II.

Vergleicht man die Labormethoden untereinander, zeigen sich systematische Abweichungen. So bestimmte bei Serum I und bei Serum II die Jaffé-Methode im Mittel die höchsten Kreatinin-Konzentrationen. Die Bestimmung mit Ektachem ergab um 0,05 mg/dl niedrigere Werte. Die niedrigsten Konzentrationen bestimmte der Creatinin-plus-Test mit etwa 0,06 mg/dl niedriger als Ektachem, bzw. 1,2 mg/dl niedriger als Jaffé.

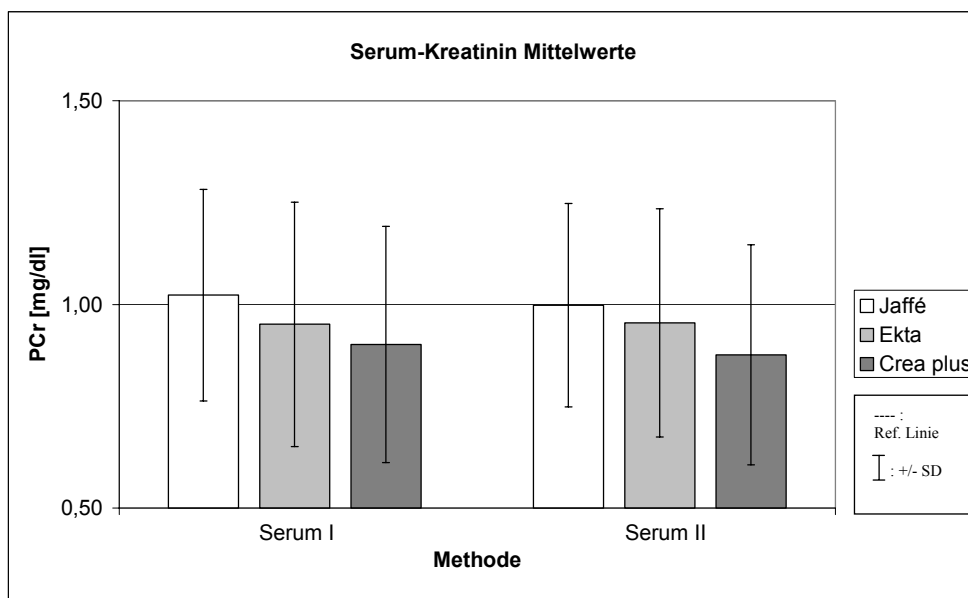


Abb. 11: Serum-Kreatinin Mittelwerte aller 27 Patienten

Analog dazu sind in Abb. 12 die Mittelwerte der Urin-Kreatinin-Konzentrationen dargestellt.

Für die  $CCr_{KZM}$  wurden drei Urinsammlungen benötigt (Urin I, II, III), für die  $CCr_{24-h}$  eine Urinsammlung (24-h-Urin). Diese vier Proben wurden ebenfalls durch die drei

verschiedenen Methoden bestimmt. Daraus ergeben sich  $4 \times 3 = 12$  Urin-Kreatinin-Konzentrationen pro Patient.

Betrachtet man die Sammelurine unabhängig von der Bestimmungsmethode, war Urin I mit etwa 2 mg/dl geringfügig höher konzentriert als der 24-h-Urin.

Die Kreatinin-Konzentrationen von Urin III waren etwa 6 mg/dl geringer als Urin I.

Urin II hatte insgesamt die geringsten Konzentrationen und lag etwa 15 mg/dl unter Urin I.

Auffällig war die Umkehr der methodenabhängigen Kreatinin-Konzentrationen von Serum zu Urin. Während im Mittel Jaffé die höchste und Creatinin plus die niedrigste Serum-Kreatinin-Konzentration gemessen hatte, war es für Urin umgekehrt: Das Jaffé-Kreatinin war das niedrigste, die Bestimmung mit Ektachem bei allen Urinproben etwa um 4 mg/dl höher, und mit Creatinin plus lag es am höchsten, etwa 3 mg/dl höher als Ektachem bzw. 7 mg/dl höher als Jaffé.

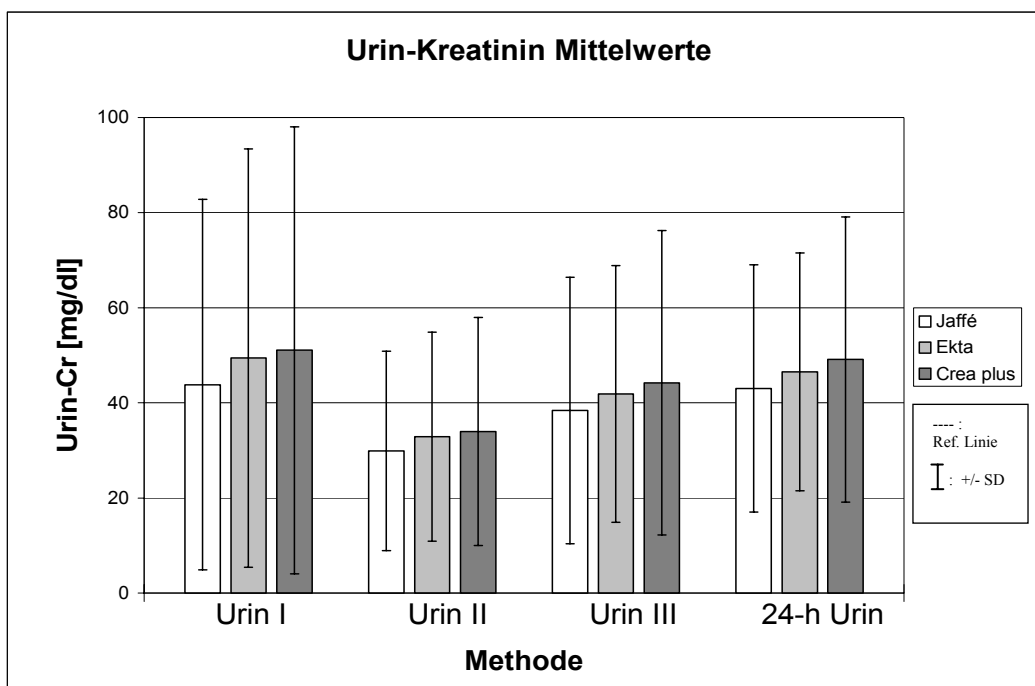


Abb. 12: Urin-Kreatinin Mittelwerte aller 27 Patienten

## 4.2 Ergebnisse der GFR-Bestimmungen

### 4.2.1 Übersicht der GFR-Bestimmungen

Zur Übersicht sind die Mittelwerte der unterschiedlichen GFR-Berechnungen aller 27 Patienten in Abb. 13 dargestellt und werden im Folgenden kommentiert.

Die CIn als Referenzmethode ergab eine mittlere GFR von 73 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode überschätzte die CCr<sub>Schw</sub> und die CCr<sub>KZM</sub> die CIn.

Abhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode unterschätzt oder überschätzt die CCr<sub>24-h</sub> die CIn.

Bezogen auf die Kreatinin-Bestimmungsmethoden zeigte sich eine deutliche Systematik: Jaffé ermittelte unabhängig von den klinischen Untersuchungsmethoden (CCr<sub>24-h</sub>, CCr<sub>KZM</sub>, CCr<sub>Schw</sub>) gegenüber Ektachem und Creatinin plus die niedrigsten GFR-Werte (61, 79, 88 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). Ektachem lieferte mittlere GFR-Werte (72, 98, 96 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>), Creatinin plus die höchsten Werte (79, 104, 103 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>).

Die Standardabweichung der CIn um den Mittelwert betrug 28 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die Standardabweichungen der zu untersuchenden neun Methoden zeigten eine deutliche Abhängigkeit der Kreatinin-Bestimmungsmethode, nicht aber von der Untersuchungsmethode. Die Jaffé-Methode zeigte annähernd identische Werte gegenüber der Referenzmethode, unabhängig von der Untersuchungsmethode, mit 27 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> für die CCr<sub>24-h</sub>, 28 für die CCr<sub>KZM</sub> und 30 für die CCr<sub>Schw</sub>. Die Standardabweichungen von der Ektachem-Methode betrugen 31, 41 bzw. 34 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> für CCr<sub>24-h</sub>, CCr<sub>KZM</sub> bzw. CCr<sub>Schw</sub>. Die Standardabweichungen von Creatinin plus betrugen 39, 42 bzw. 40 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

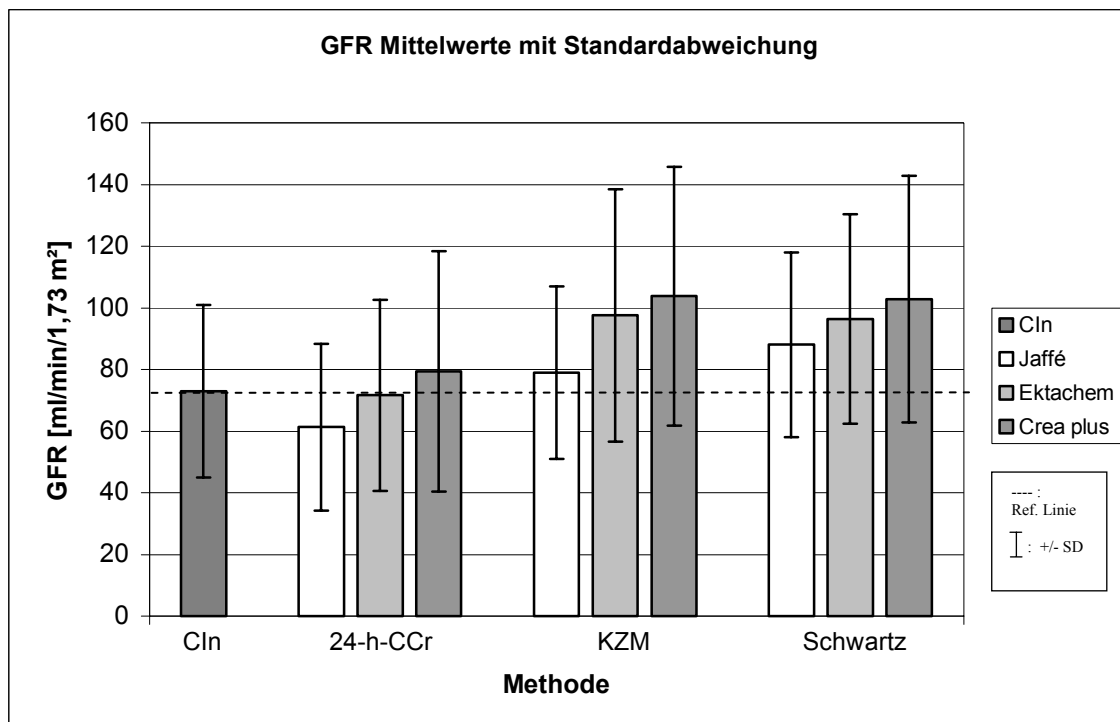


Abb. 13: Übersicht der Mittelwerte der verschiedenen GFR-Bestimmungen bei allen 27 Patienten

### 4.2.2 Korrelationen und Regressionen

Die Zusammenhänge zwischen den untersuchten GFR-Bestimmungsmethoden und der CIn werden als Punktwolken in den Abb. 14, 15 und 16 dargestellt, wobei die zu untersuchende Methode als Ordinate, die CIn als Abszisse definiert wurde.

Korrelation ( $r$ ), Regressionsgerade (durchgezogene Linie) und ihre Funktion ( $y = ax + b$ ) sowie die „line of identity“ ( $y = x$ , gestrichelte Linie) wurden zusätzlich eingezeichnet.

Signifikanzniveaus wurden bewusst nicht berechnet, da alle Methoden die gleichen Parameter bestimmen und somit ein Zusammenhang der Methoden dieser Studie grundsätzlich zugrunde lag.

Die Regressionsgerade ermittelt sich nach der Methode der kleinsten Quadrate.

In drei Gruppen eingeteilt, werden  $CCr_{24-h}$ ,  $CCr_{KZM}$  und  $CCr_{Schw}$  getrennt voneinander kommentiert. Die Unterschiede in Abhängigkeit von der der Kreatinin-Bestimmungsmethoden werden ebenfalls beleuchtet.

#### 4.2.2.1 Zusammenhang zwischen CIn und $CCr_{24-h}$

Zur Untersuchung der  $CCr_{24-h}$  konnten nur 26 von 27 Patienten herangezogen werden. Bei Patient Nr. 47 betrug die Sammelurinmenge lediglich 500 ml/24 h; die daraus berechneten extrem niedrigen GFR-Werte erschienen nicht reliabel, so dass dies als Sammelfehler gewertet wurde.

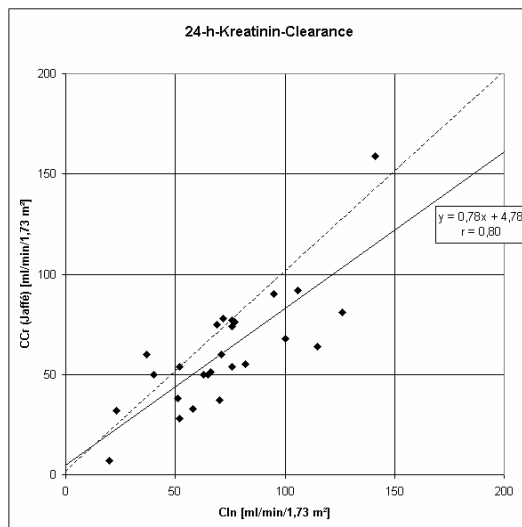
Die CIn hatte bei den 26 untersuchten Patienten einen Bereich von 20 bis 141 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, bei der  $CCr_{24-h}$  (Jaffé) betrug der Bereich 7 bis 159, bei  $CCr_{24-h}$  (Ektachem) 8 bis 146 und bei  $CCr_{24-h}$  (Creatinin plus) 7 bis 196 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die Bestimmungen mit Jaffé und Ektachem ergaben mit  $r = 0,8$  einen guten Zusammenhang mit der Referenzmethode. Betrachtete man die Funktion der Regression, so unterschätzte  $CCr_{24-h}$  (Jaffé) die CIn ab Werten größer als 10 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, zunehmend mit steigender Nierenfunktion. Die Regressionsgerade von  $CCr_{24-h}$  (Ektachem) verläuft nahe der line of identity. Die Methode überschätzte die CIn schwach bis GFR-Werte um 70 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, kreuzte dann die line of identity, um dann die CIn bei steigender Nierenfunktion schwach zu unterschätzen.

Innerhalb der  $CCr_{24-h}$  zeigte die Bestimmung mit Creatinin plus die besten Korrelationen mit  $r = 0,83$ . Bei einem kleinen y-Achsenabschnitt von  $b = -3$  wurde die CIn nur bei GFR-Werten unter 25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> unterschätzt. Darüber überschätzte die

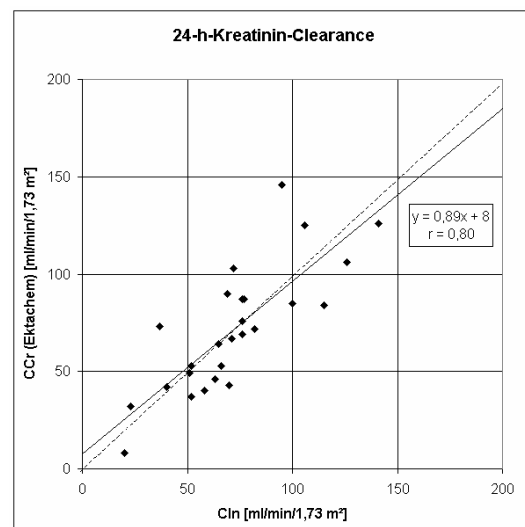
Methode die CIn mit schwacher Divergenz von der line of identity bei zunehmenden GFR-Werten. In Tab. 6 und Abb. 14 bis Abb. 16 sind alle Daten zusammengefasst.

	CCr <sub>24-h</sub> Jaffé	CCr <sub>24-h</sub> Ektachem	CCr <sub>24-h</sub> Creatinin plus
Korrelationskoeffizient (r)	0,80	0,80	0,83
Regression (y = ax + b)	y = 0,78x + 5	y = 0,89x + 8	y = 1,14x - 3

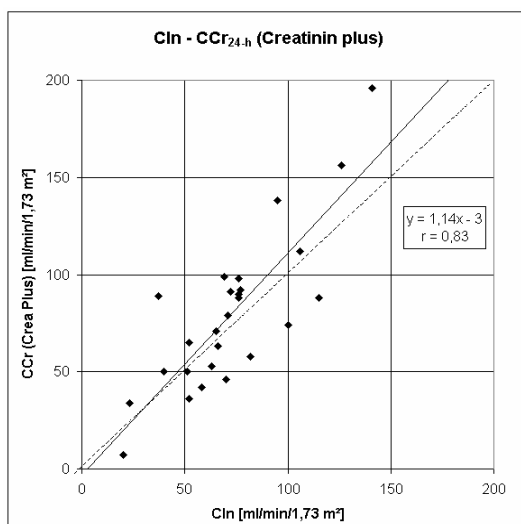
**Tab. 6: Vergleich CIn – CCr<sub>24-h</sub>**



**Abb. 14: Vergleich CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Jaffé)**



**Abb. 15: Vergleich CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Ektachem)**



**Abb. 16: Vergleich CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus)**

#### 4.2.2.2 Zusammenhang zwischen CIn und CCr<sub>KZM</sub>

Der Bereich der 27 untersuchten Patienten ergab für die CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) 13 bis 137 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, für die CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem) 13 bis 182 und für die CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus) 13 bis 203 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Bei der Kurz-Zeit-Methode zeigten sich deutlichere Unterschiede des Zusammenhangs als bei der CCr<sub>24-h</sub>. Die stärkste Korrelation von  $r = 0,85$  wurde bei der CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus) ermittelt, gefolgt von CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) mit  $r = 0,81$  und der CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem) mit  $r = 0,77$ .

Betrachtet man hier die Regressionsanalysen, kreuzt die Regressionsgerade der CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) die Line of identity bei ca. 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Unter 90 überschätzte die Methode die CIn leicht, umgekehrt wurde die CIn über 90 unterschätzt.

Die CCr<sub>KZM</sub> überschätzte die CIn über den gesamten Nierenfunktionsbereich, sowohl mit Ektachem als auch mit Creatinin plus. Die Regressionsgerade lag also stets über der line of identity. Die Divergenz der Geraden war mit einer Steigung von 1,29 deutlicher bei der CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus), als bei der CCr<sub>KZM</sub> Ektachem mit 1,16. Der y-Achsenabschnitt war etwa gleich, 10 für CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus) und 13 für CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem).

Alle Daten sind in Tab. 7 und Abb. 17 bis Abb. 19 zusammengefasst.

	CCr <sub>KZM</sub> Jaffé	CCr <sub>KZM</sub> Ektachem	CCr <sub>KZM</sub> Creatinin plus
Korrelationskoeffizient (r)	0,81	0,77	0,85
Regression ( $y = ax + b$ )	$y = 0,82x + 19$	$y = 1,16x + 13$	$y = 1,29x + 10$

Tab. 7: Vergleich CIn – CCr<sub>KZM</sub>

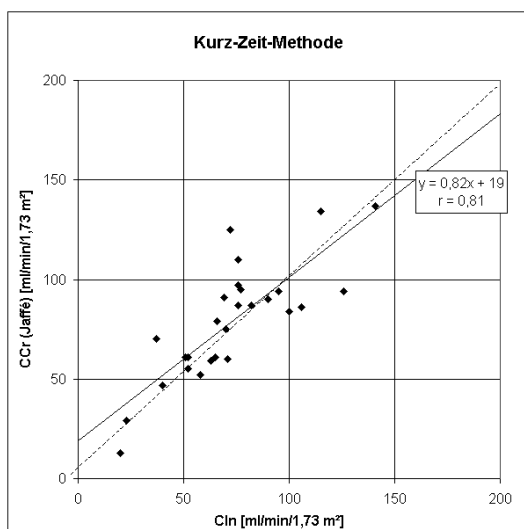


Abb. 17: Vergleich CIn - CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé)

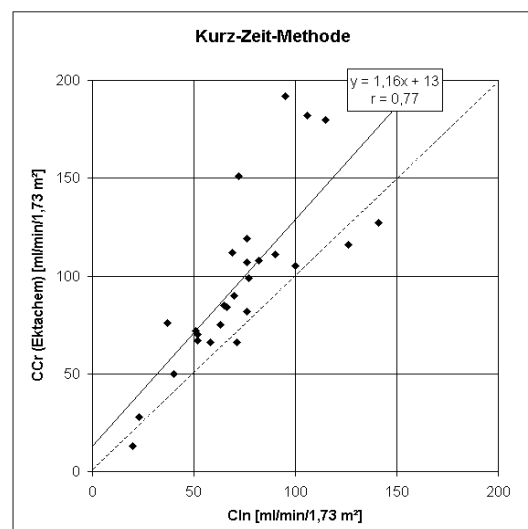


Abb. 18: Vergleich CIn - CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem)



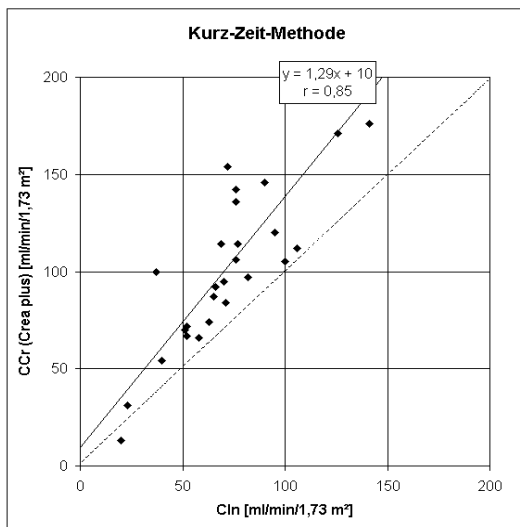


Abb. 19: Vergleich CIn - CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus)

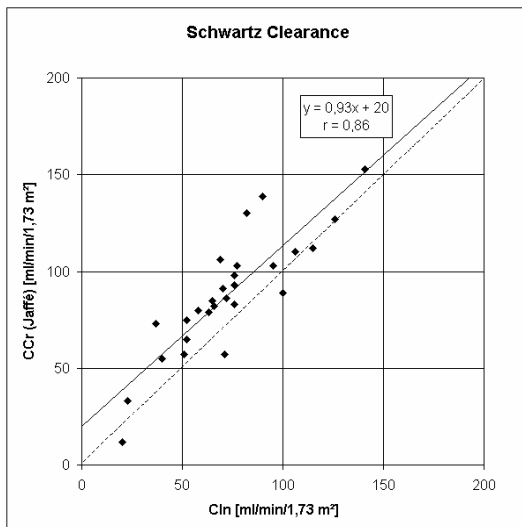
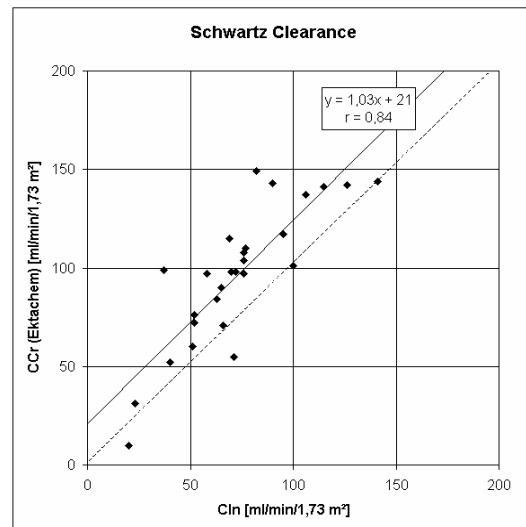
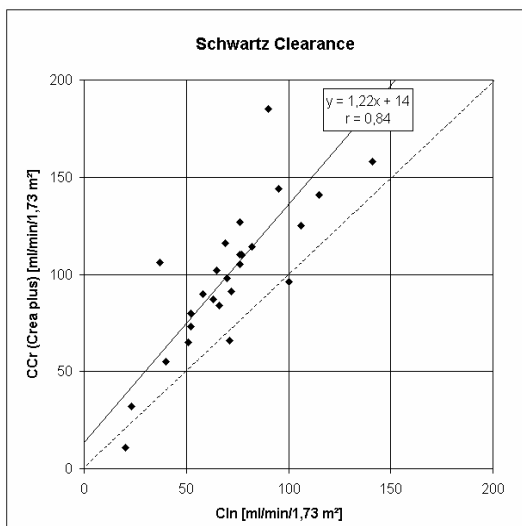
#### 4.2.2.3 Zusammenhang zwischen CIn und CCr<sub>Schw</sub>

Die CCr<sub>Schw</sub> lieferte unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode sehr gute Korrelationen. Den besten Wert aller untersuchten Methoden erreichte die CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) mit  $r = 0,86$ . CCr<sub>Schw</sub> (Ektachem) und CCr<sub>Schw</sub> (Creatinin plus) korrelierten mit der CIn mit  $r = 0,84$ . Ebenfalls unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode überschätzte die CCr<sub>Schw</sub> stets die CIn. Bei den Bestimmungen mit Jaffé und Ektachem kam es zu einem annähernd parallelen Verlauf zur line of identity mit Steigungen von 0,93 und 1,03. Dadurch entspricht der y-Achsenabschnitt von 20 für CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) und 21 für CCr<sub>Schw</sub> (Ektachem) der Überschätzung der CIn in ml/min/1,73 m<sup>2</sup> über den gesamten Nierenfunktionsbereich.

Der y-Achsenabschnitt der CCr<sub>Schw</sub> (Creatinin plus) betrug zwar nur 14 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, jedoch war bei dieser Methode die Steigung mit 1,22 deutlich höher als 1 und überschätzte die CIn somit zunehmend mit steigender Nierenfunktion.

	CCr <sub>Schw</sub> Jaffé	CCr <sub>Schw</sub> Ektachem	CCr <sub>Schw</sub> Creatinin plus
Korrelationskoeffizient (r)	0,86	0,84	0,84
Regression ( $y = ax + b$ )	$y = 0,93x + 20$	$y = 1,03x + 21$	$y = 1,22x + 14$

Tab. 8: Vergleich CIn – CCr<sub>Schw</sub>

Abb. 20: Vergleich CIn – CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé)Abb. 21: Vergleich CIn – CCr<sub>Schw</sub> (Ektachem)Abb. 22: Vergleich CIn - CCr<sub>Schw</sub> Creatinin plus

#### 4.2.2.4 Zusammenhang zwischen CIn und Cystatin C

Die Cystatin-C-Bestimmung erfolgte retrospektiv bei 19 von 27 Patienten aus verbliebenem Restplasma. Das Plasma war zuvor bei -30° C eingefroren worden.

In Abb. 23 wurden die Kehrwerte der Cystatin-C-Konzentrationen gegen die CIn aufgetragen. So lässt sich ein positiver Zusammenhang zwischen Cystatin C und der CIn erhalten.

Die Korrelation beträgt  $r = 0,75$  und ist damit niedriger als bei sämtlichen kreatinin-abhängigen Methoden. Die Regressionsgrade schneidet die Ordinate bei einem y-Achsenabschnitt von 0,19 und divergiert mäßig von der line of identity bei steigender GFR.

Eine zweite Darstellung (Abb. 24) ermöglicht den direkten Vergleich zwischen Cystatin C und CIn. Nach Filler et al. (2003) wurden die Cystatin-C-Werte in die Formel (10) eingesetzt, die eine direkte Umrechnung in die GFR ermöglicht. Die so ermittelte GFR wird im folgenden „GFR<sub>CysC</sub>“ genannt.

$$\log(\text{GFR}) = 1,962 + [1,123 \times \log(1/\text{Cystatin C})] \quad (10)$$

Die Korrelation beträgt bei dieser Darstellung  $r = 0,80$ . Die Regressionsgerade schneidet die y-Achse bei +10. Die Gerade divergiert mit einer Steigung von 1,36 von der line of identity, das heißt, die Werte weichen mit zunehmender GFR positiv ab.

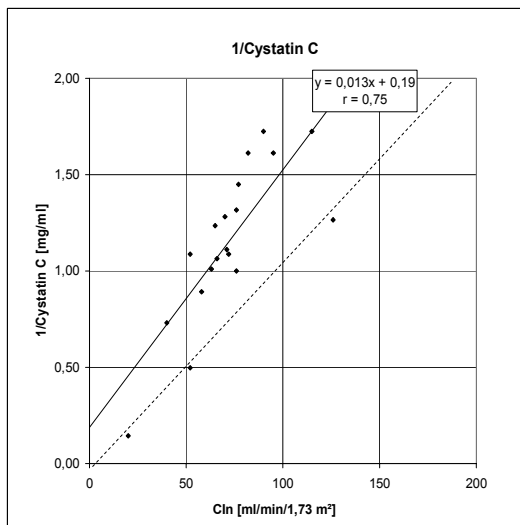


Abb. 23: Vergleich CIn – 1/Cystatin C

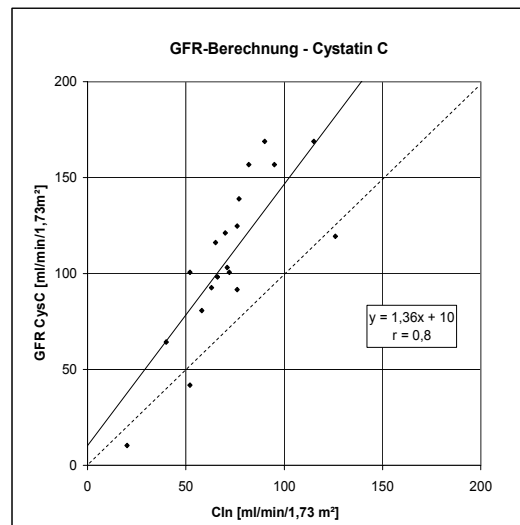


Abb. 24: Vergleich CIn – GFR<sub>CysC</sub>

#### 4.2.2.5 Konfidenzintervalle aller Korrelations-Koeffizienten

Die bisher beschriebenen Korrelations-Koeffizienten spiegeln den Zusammenhang der untersuchten Stichprobe wider. Um eine konkretere Aussage für zukünftige Untersuchungen treffen zu können, wurden zusätzlich 95%-Konfidenzintervalle der Korrelations-Koeffizienten berechnet. Diese Intervalle beschreiben die zu erwartenden Korrelationen, bei hypothetisch unendlich häufiger Wiederholung des Experimentes. Beurteilt werden sowohl die Grenzen, als auch die Breite des Intervalls.

In Tab. 9 und Abb. 25 sind alle Ergebnisse zusammengestellt.

Die stärksten Korrelationen mit gleichzeitig den schmalsten 95%-Konfidenzintervallen zeigten die Bestimmungen nach Schwartz. Die höchste aller berechneten Obergrenzen mit  $r = 0,94$  ergab die  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Jaffé) bei der ebenfalls schmalsten aller berechneten Intervallbreiten von 0,22.  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Ektachem und Creatinin plus) waren mit ebenfalls sehr guten Obergrenzen ( $r = 0,92$ ) und schmalen Intervallen (0,25) identisch.

Die Werte der  $CCr_{KZM}$  sind stark abhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode. Bei der  $CCr_{KZM}$  (Creatinin plus) kam es zu sehr guten Ergebnissen. Mit einer Obergrenze von  $r = 0,93$  und einer geringen Breite von nur 0,24 war diese die zweitbeste Methode. Wurden die Proben jedoch mit Jaffé oder Ektachem bestimmt, fielen die Korrelationen schwächer aus (Obergrenzen  $r = 0,91$  bzw. 0,89; Breite 0,29 bzw. 0,33).

Auch innerhalb der  $CCr_{24-h}$  war die Creatinin-plus-Methode die überlegenere. Die Obergrenze von  $r = 0,92$  lag in einem guten Bereich, jedoch waren alle Intervallbreiten mit 0,28 – 0,31 ähnlich schmal wie die der  $CCr_{KZM}$  für Jaffé und Ektachem.

Betrachtet man die Ergebnisse der beiden Cystatin-C-Methoden, so fallen die deutlich breiteren Intervalle von 0,38 für  $GFR_{CysC}$  und 0,46 für die Kehrwertberechnung  $1/Cystatin\ C$  auf. So relativieren sich auch die guten Obergrenzen der Intervalle von 0,92 und 0,90. Die Breite der Intervalle ist v. a. in der verminderten Fallzahl der Patienten begründet, nicht jedoch die niedrige Gesamtlage des Intervalls. Beide Cystatin-C-Methoden zeigen die schwächsten Ergebnisse aller 11 Methoden, mit der Einschränkung der retrospektiven Analyse sowie der geringeren Fallzahl.

Methode	Labor	untere Grenze	Intervallbreite	obere Grenze
<b><math>CCr_{24-h}</math></b>	Jaffé	0,59	0,31	0,90
	Ektachem	0,59	0,31	0,90
	Crea plus	0,64	0,28	0,92
<b><math>CCr_{KZM}</math></b>	Jaffé	0,62	0,29	0,91
	Ektachem	0,56	0,33	0,89
	Crea plus	0,69	0,24	0,93
<b><math>CCr_{Schw}</math></b>	Jaffé	0,72	0,22	0,94
	Ektachem	0,67	0,25	0,92
	Crea plus	0,67	0,25	0,92
<b><math>GFR_{CysC}</math> 1/Cystatin C</b>		0,54	0,38	0,92
		0,44	0,46	0,90

Tab. 9: 95%-Konfidenzintervalle aller Korrelationen

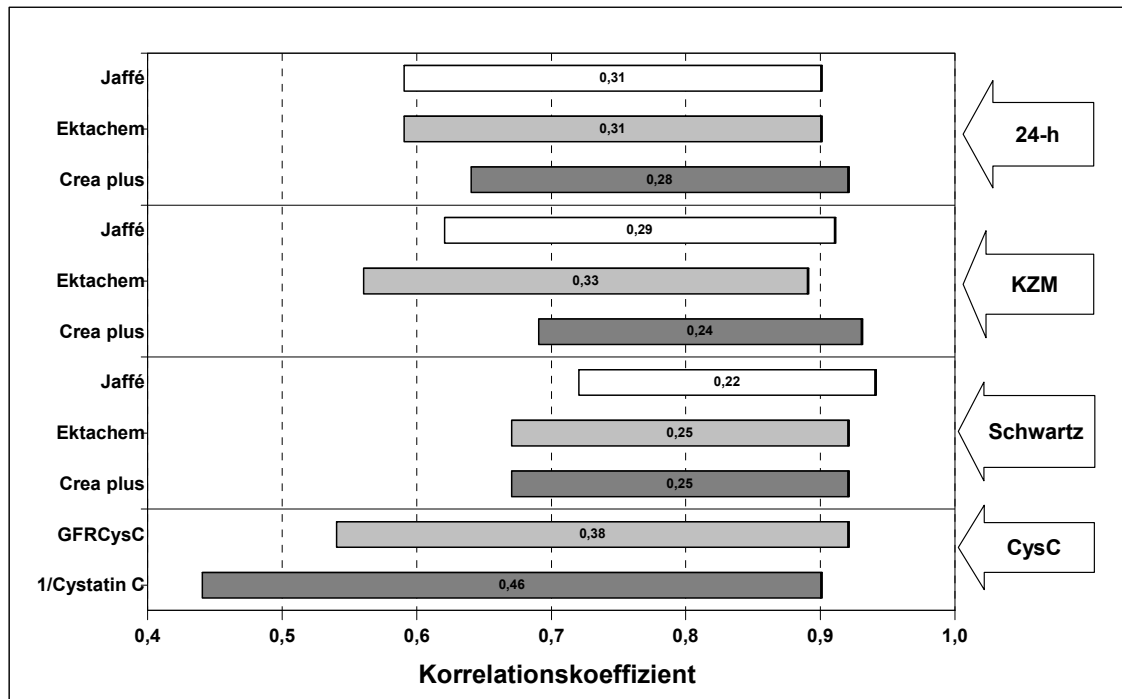


Abb. 25: 95%-Konfidenzintervalle aller Korrelationen

### 4.2.3 Bland&Altman-Plots

Während die Darstellungen der Ergebnisse durch Korrelationen und Regressionen lediglich die Zusammenhänge der untersuchten Methoden beschreiben, ist es durch Bland&Altman-Plots möglich, die Übereinstimmung grafisch darzustellen.

In diesen Diagrammen werden die Differenzen der Referenz-Methode und der zu untersuchenden Methoden  $[C_{In} - C_{Cr_{xxx}}]$  gegen deren Mittelwert  $[(C_{In} + C_{Cr_{xxx}})/2]$  aufgetragen. Dabei werden auf der y-Achse die Differenzen und auf der x-Achse die Mittelwerte aufgetragen werden.

Da sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Stärke der Niereninsuffizienz und der Streuung der Werte zeigte, wurde zur besseren Interpretierbarkeit der Ergebnisse auf die logarithmische Darstellung verzichtet.

Drei Bewertungskriterien gehen in die Grafiken ein:

1. Die Abszisse schneidet die Ordinate im Mittelwert aller Differenzen der untersuchten Methode. Der y-Achsenabschnitt gibt also die durchschnittliche Abweichung von der Referenzmethode wider, wobei positive Werte eine Unterschätzung der zu untersuchenden Methode darstellen, negative Werte eine Überschätzung.

2. Durch Punkt-Strich-Linien ist das 95%-Konfidenzintervall gekennzeichnet. Bezogen auf die Grundgesamtheit werden mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 95% die durchschnittlichen Differenzen beider Methoden in diesem Intervall liegen.
3. Als gestrichelte Linien sind die 1,96-fachen Standardabweichungen ( $\pm 1,96 \times \text{SD}$ ) aller Differenzen eingezeichnet. 95% der erhobenen Daten liegen innerhalb dieser beiden Grenzen.

Im Folgenden werden die verschiedenen Untersuchungsmethoden ( $\text{CCr}_{24\text{-h}}$ ,  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  und  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ ) einzeln beschrieben und auf die Unterschiede zwischen den verschiedenen Kreatinin-Bestimmungsmethoden innerhalb dieser Kapitel eingegangen.

#### 4.2.3.1 Übereinstimmung zwischen CIn und $\text{CCr}_{24\text{-h}}$

Die Ergebnisse des Vergleichs der CIn mit der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  sind in den unten gezeigten Bland&Altman-Plots (Abb. 26-28) dargestellt.

Die durchschnittliche Abweichung von der Referenzmethode CIn betrug für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  bei unseren Patienten zwischen  $+11 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  bei Bestimmung mit Jaffé und  $-7 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  mit Creatinin plus. Zwischen diesen beiden Werten lag mit einer Differenz von  $+1 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Ektachem). Wie oben beschrieben heißt das in der Praxis, dass die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Creatinin plus) die CIn als einzige der 24-h-Clearance-Methoden überschätzt, hingegen die beiden anderen Methoden  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Ektachem) und mehr noch  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Jaffé) die CIn unterschätzen.

Überträgt man diese Untersuchung auf die Grundgesamtheit mittels des 95%-Konfidenzintervalles, so ergibt sich für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Jaffé) eine sichere Unterschätzung der Referenzmethode im Bereich von 18 bis  $4 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Bei Bestimmung mit Ektachem und Creatinin plus ist der Nullwert jeweils eingeschlossen ( $[8, -7]$ ;  $[2, -16] \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ).

Innerhalb der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$ , wie auch bei den anderen Untersuchungsmethoden ( $\text{CCr}_{\text{KZM}}$ ,  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ ), hatte die Jaffé Methode gegenüber Ektachem und Creatinin plus die geringste 1,96-fache Standardabweichung ( $1,96 \times \text{SD}$ ) mit  $\pm 36 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die  $1,96 \times \text{SD}$  der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Ektachem) betrug  $\pm 38 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  und hatte damit, gemessen an allen Methoden, eine relativ geringe Streuung. Die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Creatinin plus) hingegen hatte eine breite Verteilung der Werte mit einer  $1,96 \times \text{SD}$  von  $\pm 46 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .

Vergleicht man diese teilweise stark vom Mittel abweichenden Werte von bis zu  $\pm 50$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit den guten Ergebnissen der berechneten Korrelationen in dem vorherigen Kapitel 4.2.2, wird deutlich, dass die Darstellung von Regressionen und Korrelationen ungeeignet ist und für die Praxis keine zuverlässige Aussage liefert.

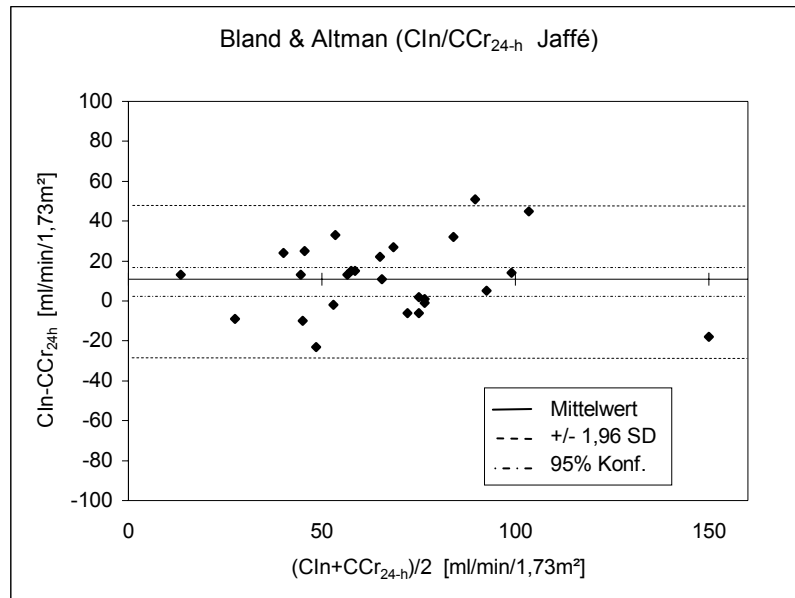


Abb. 26: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Jaffé)

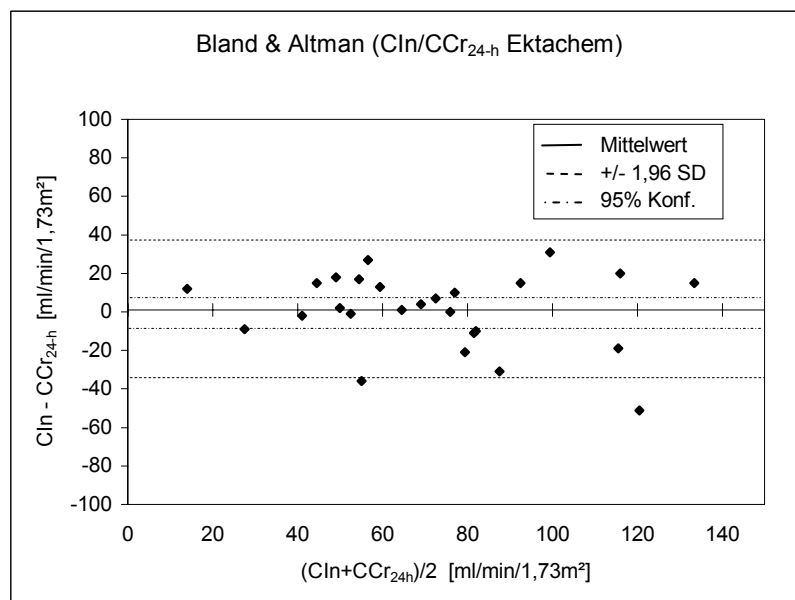


Abb. 27: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Ektachem)

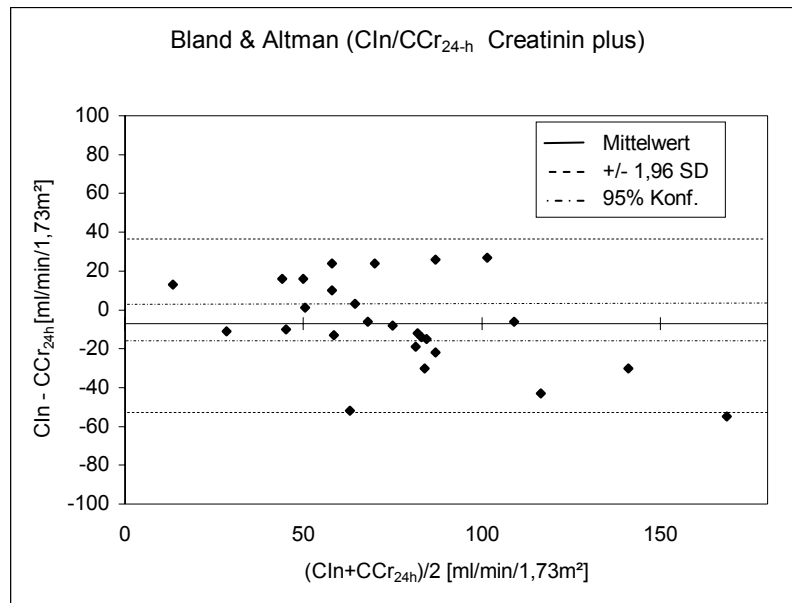


Abb. 28: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus)

#### 4.2.3.2 Übereinstimmung zwischen CIn und CCr<sub>KZM</sub>

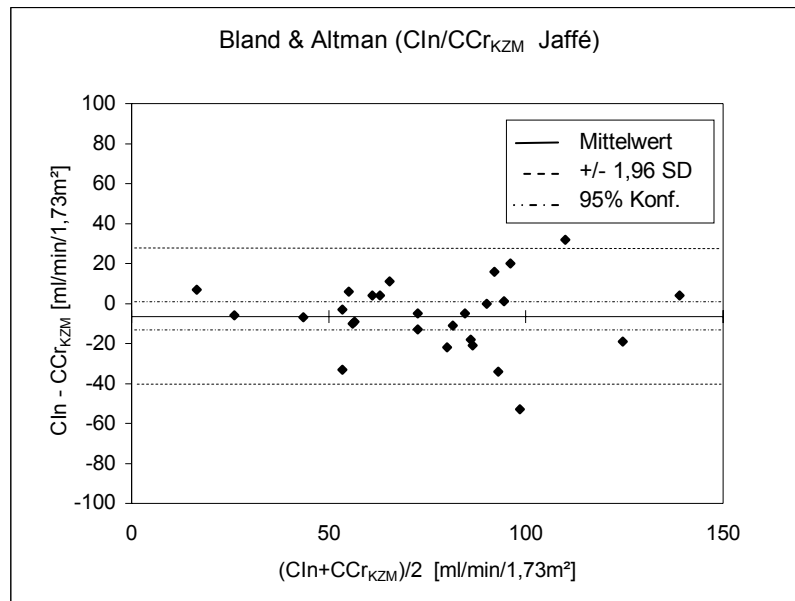
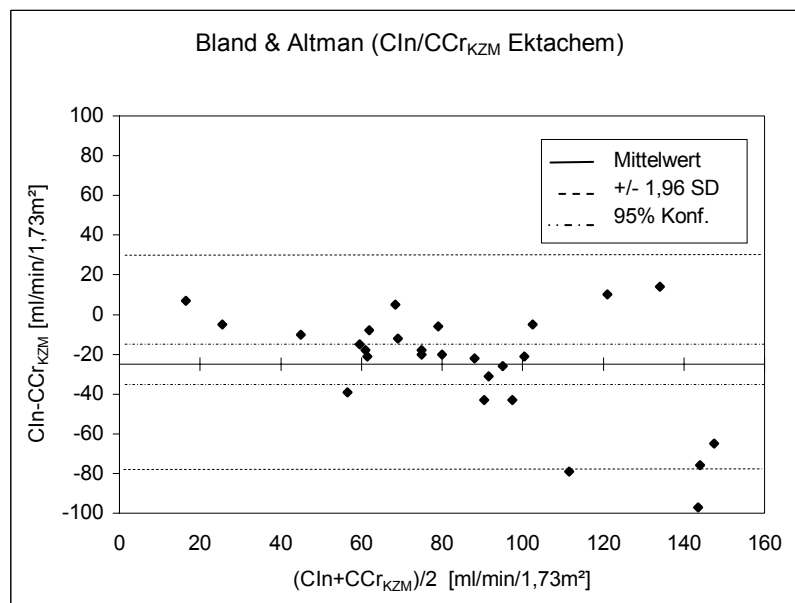
Die Ergebnisse des Vergleichs der CIn mit der CCr<sub>KZM</sub> sind in den Bland&Altman-Plots Abb. 29 -31 dargestellt

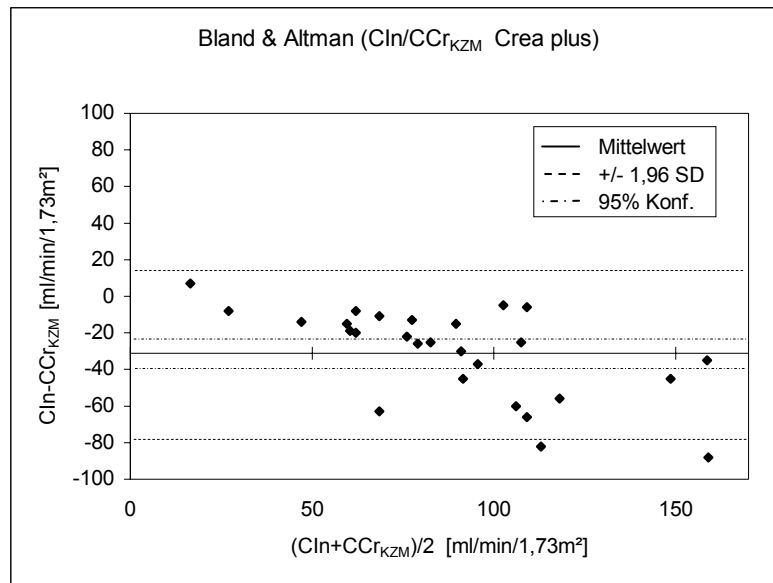
Die mittleren Abweichungen der CCr<sub>KZM</sub> gegenüber der CIn betrugen zwischen - 6 und -31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, das heißt, die Kurz-Zeit-Methode überschätzte unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode die Referenzmethode CIn. Im Einzelnen zeigten sich folgende Ergebnisse: Die CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) überschätzte die CIn im Mittel am geringsten mit 6 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, gefolgt von der CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem), welche die Referenzmethode mit 25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> überschätzte. Die größte mittlere Abweichung von 31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> zeigte die CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus). Dies war gleichzeitig die größte mittlere Abweichung aller 9 untersuchten Methoden.

Das 95%-Konfidenzintervall verdeutlicht wie im Kapitel 4.2.3.1 den zu erwartenden Bereich der mittleren Abweichungen bezogen auf die Grundgesamtheit.

Nur die CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) überschreitet knapp den Nullpunkt. Das Intervall ist entsprechend der kleinen Standardabweichung schmal und hat die Grenzwerte [1, -13]. Sowohl das Intervall der CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem) als auch das Intervall der CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus) liegen vollständig im negativen Bereich. Die Grenzen betragen [-17, -32] bzw. [-22, -40] ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.



Abb. 29: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé)Abb. 30: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem)



**Abb. 31: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus)**

Betrachtet man nun die Streuung der Werte um die mittlere Abweichung, so zeigte sich innerhalb der CCr<sub>KZM</sub> die Bestimmung nach Jaffé als präziseste Methode. Die  $1,96 \cdot SD$  betrug  $\pm 34$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Die CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem) zeigte mit einer  $1,96 \cdot SD$  von  $\pm 54$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> die breiteste Streuung aller neun untersuchten Methoden. Auch die CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus) lieferte schlechte Ergebnisse mit einer  $1,96 \cdot SD$  von  $\pm 48$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

#### 4.2.3.3 Übereinstimmung zwischen CIn und CCr<sub>Schw</sub>

Die Bland&Altman-Plots des Vergleichs CIn und CCr<sub>Schw</sub> sind in den Abb. 32 - 34 dargestellt.

Ähnlich wie die Kurz-Zeit-Methode CCr<sub>KZM</sub> überschätzte die CCr<sub>Schw</sub> die Referenzmethode; dies war unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode. In den grafischen Darstellungen schnitt die x-Achse die y-Achse in negativen Bereichen.

In Abhängigkeit der Kreatinin-Bestimmungsmethode zeigte sich eine fast identische Werteverteilung wie bei der CCr<sub>KZM</sub>. Die beste mittlere Übereinstimmung zwischen den untersuchten Methoden und der Referenzmethode innerhalb der CCr<sub>Schw</sub> zeigte die Bestimmung nach Jaffé. Die durchschnittliche Überschätzung lag bei 11 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. CCr<sub>Schw</sub> (Ektachem) überschätzte die Referenzmethode im Mittel um 16 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die CCr<sub>Schw</sub> (Creatinin plus) zeigte mit 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> die schlechteste Übereinstimmung mit der CIn.

Außerdem zeigte die Schwartz-Clearance die schmalsten 95%-Konfidenzintervalle aller neun Untersuchungen, was sich durch die weiter unten dargestellten kleinen Standard-

abweichungen erklärt. Keines der Intervalle überschritt den 0-Wert. So hatte die  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) einen Konfidenzbereich von nur  $[-5, -17]$ . Das Konfidenzintervall der  $CCr_{Schw}$  (Ektachem) für die mittlere Abweichung von der CIn betrug  $[-16, -31]$  und für die  $CCr_{Schw}$  (Creatinin plus)  $[-21, -39]$ .

Auch für die Streuung um die mittlere Abweichung von der Referenzmethode zeigte die  $CCr_{Schw}$  die besten Werte. Dies war unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode.

Die geringste Streuung aller neun untersuchten Methoden wurde durch die  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) erzielt. Die  $1,96 \cdot SD$  betrug  $\pm 31 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die  $CCr_{Schw}$  (Ektachem) zeigte ebenfalls, gemessen an den anderen Methoden, eine geringe Streuung von  $\pm 37 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Innerhalb der  $CCr_{Schw}$  lieferte die Bestimmung durch Creatinin plus die breiteste Streuung von  $\pm 45 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .

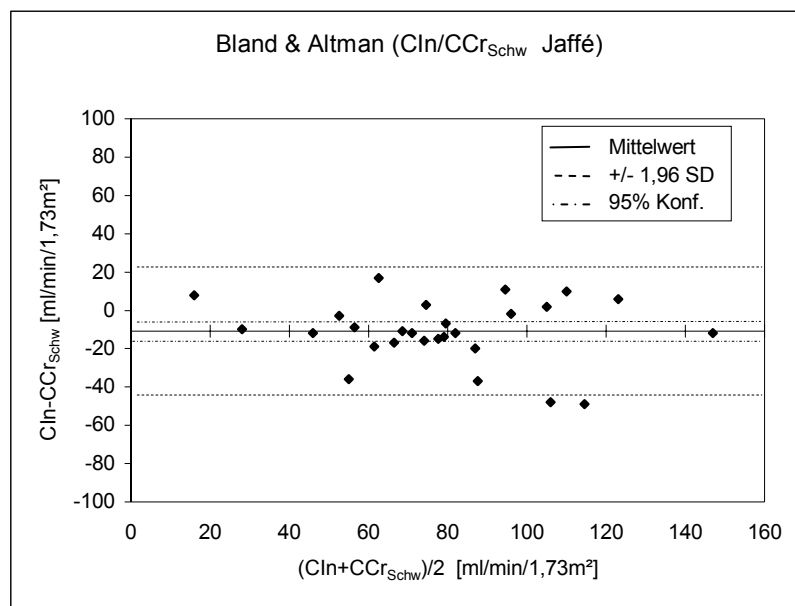


Abb. 32: Übereinstimmung zwischen CIn –  $CCr_{Schw}$  (Jaffé)

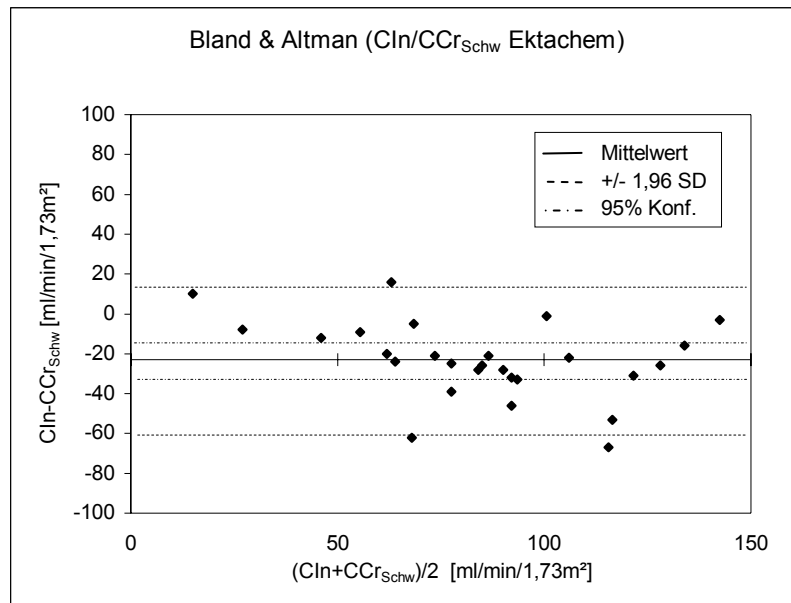


Abb. 33: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>Schw</sub> (Ektachem)

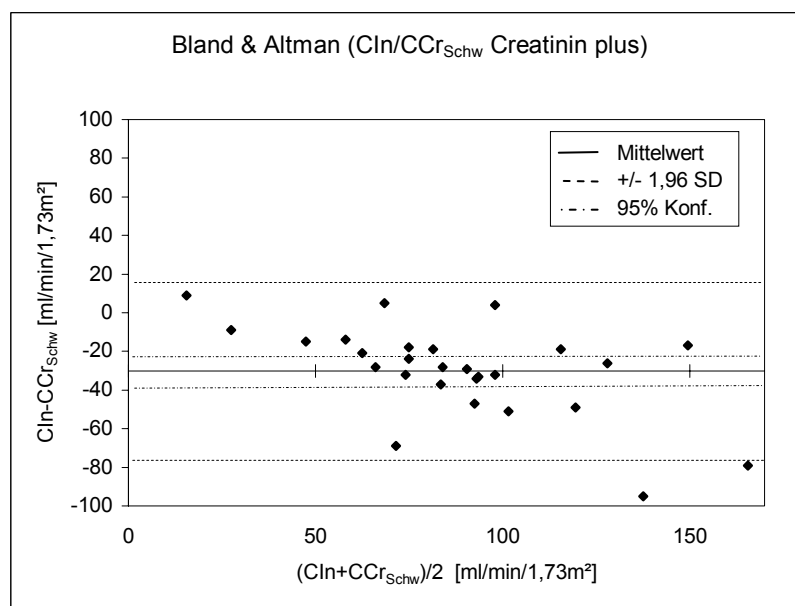


Abb. 34: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr<sub>Schw</sub> (Creatinin plus)

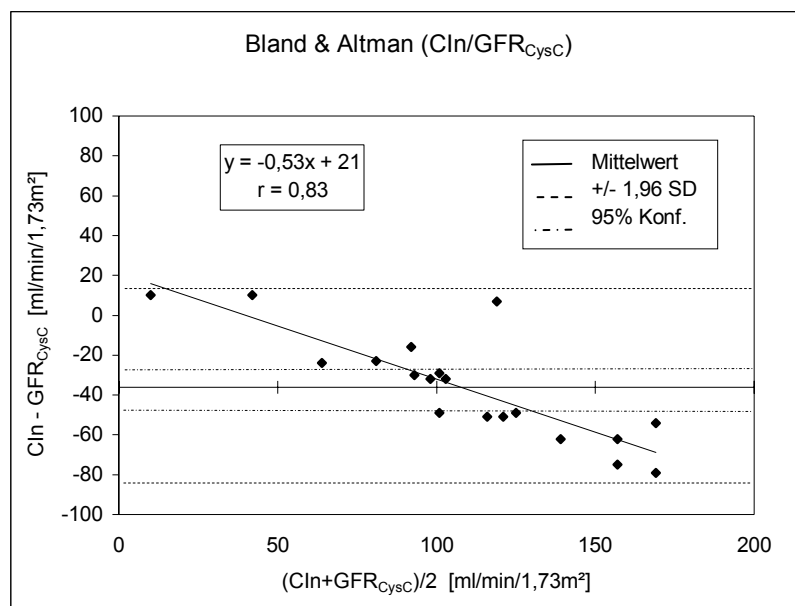
#### 4.2.3.4 Übereinstimmung zwischen CIn und GFR<sub>CysC</sub>

Der Bland&Altman-Plot zur Darstellung der Übereinstimmung zwischen CIn und GFR<sub>CysC</sub> ist in Abb. 35 gezeigt. Aufgrund der retrospektiven Analyse konnten nur 19 Patienten untersucht werden.

Wie schon bei der Regressionsanalyse und Bestimmung der Korrelations-Koeffizienten in Kapitel 4.2.2.4, waren auch hier bei der Ermittlung der Übereinstimmung schlechte Ergebnisse erzielt worden. Sie entsprechen etwa den Ergebnissen der schwächsten kreatininabhängigen Methode CCr<sub>KZM</sub> (Ektachem).

Die durchschnittliche Abweichung der  $GFR_{CysC}$  von der  $Cl_n$  war  $-36 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Das heißt, die  $GFR_{CysC}$  überschätzt die  $Cl_n$  im Mittel um  $36 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Das Konfidenzintervall hatte eine Breite von  $12 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , so dass die Intervallgrenzen  $[-25, -49]$  berechnet werden konnten. Hier erklärt sich die Breite des Intervalls v. a. durch die geringere Fallzahl.

Die Streuung der Werte um die mittlere Abweichung, dargestellt als  $1,96 \cdot SD$ , betrug  $\pm 52 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Es zeigte sich allerdings eine Abhängigkeit von der Schwere der Niereninsuffizienz. Die  $GFR_{CysC}$  überschätzt die  $Cl_n$  in immer stärkerem Maße bei zunehmender Nierenfunktion. Dieser Zusammenhang lässt sich eindeutig durch die in der Grafik dargestellten Regressionsanalyse beweisen. Der Zusammenhang ist wie bereits beschrieben umgekehrt proportional, also mit einer negativen Steigung der Regressionsgeraden von  $-0,53$ . Der y-Achsenabschnitt beträgt  $+21 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Der Korrelationskoeffizient von  $r = 0,83$  zeigt die Strenge des Zusammenhangs.



**Abb. 35:** Übereinstimmung zwischen  $Cl_n - GFR_{CysC}$  mit Regressionsanalyse der Datenpunkte

#### 4.2.3.5 Zusammenfassung aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots

In der folgenden Tabelle und Grafik sind sämtliche Ergebnisse der Bland&Altman-Plots zusammengefasst.

Mehrere Schlüsse können aus den vorliegenden Daten gezogen werden:

1. Die  $CCr_{Schw}$  lieferten abhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode die geringsten Streuungen um den Mittelwert.
2. Die Jaffé-Bestimmung lieferte unabhängig von der Untersuchungsmethode die geringste Streuung um den Mittelwert.
3. Die  $CCr_{24-h}$  hatte unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode die geringste mittlere Abweichung von der Referenzmethode  $Cl_n$ .
4. Die GFR-Bestimmung mittels Cystatin C zeigte Ergebnisse entsprechend der schwächsten kreatininabhängigen Methode  $CCr_{Schw}$  (Ektachem).

[ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ]	$CCr_{24-h}$			$CCr_{KZM}$			$CCr_{Schw}$			$GFR_{CysC}$
	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus	
<b>SD</b>	18	19	23	17	27	24	16	19	23	26
<b>95%-Konfidenz</b>	7	7	9	7	10	9	6	7	9	12
<b>+ 1,96*SD</b>	46	39	37	28	29	17	21	14	16	14
<b>ob. Konf.-Niveau</b>	18	8	2	1	-14	-22	-5	-16	-21	-25
<b>Mittelwert</b>	11	1	-7	-6	-25	-31	-11	-23	-30	-36
<b>unt. Konf.-Niveau</b>	4	-7	-16	-13	-35	-40	-17	-31	-39	-48
<b>- 1,96*SD</b>	-24	-37	-52	-40	-78	-78	-43	-61	-76	-87

Tab. 10: Übersicht aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots

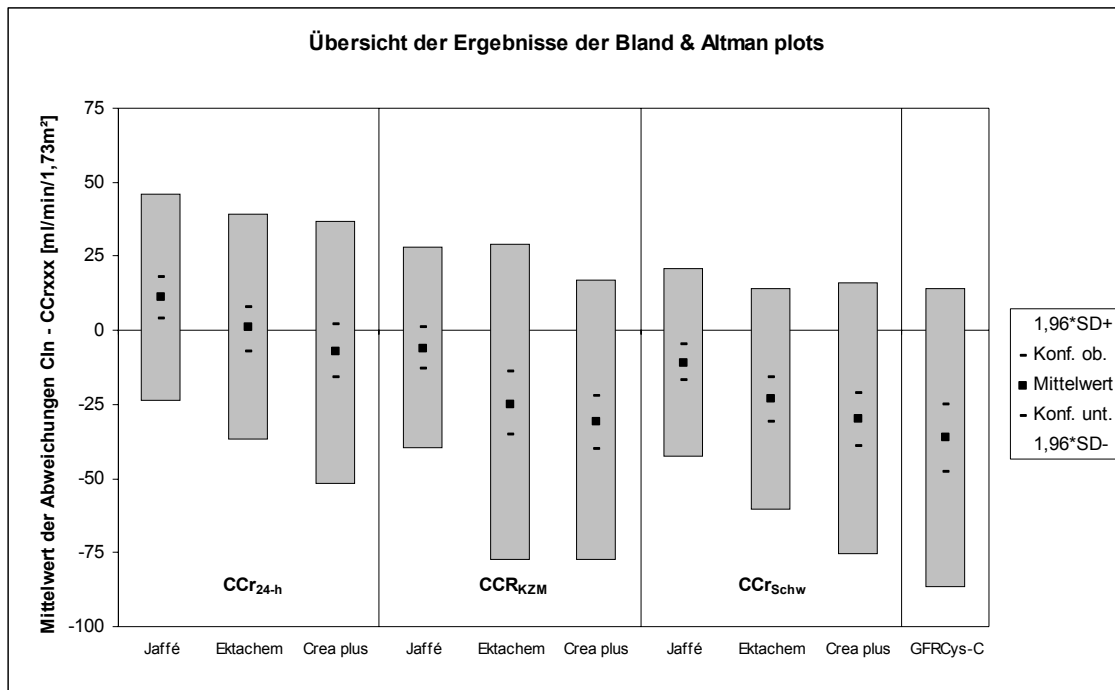


Abb. 36: Übersicht aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots

## 4.2.4 Optimierung der Schwartz-Formel für die Universitäts-Kinderklinik Marburg

### 4.2.4.1 Ermittlung neuer Konstanten k

Zwar zeigte die Schwartz-Clearance die geringste Streuung um den Mittelwert der Abweichungen, jedoch waren die Mittelwerte selbst deutlich von der Referenzmethode entfernt.

Um eine bessere Annäherung der CCr<sub>Schw</sub> an die CIn zu erreichen, wurden neue Konstanten k für die Schwartz-Formel ermittelt.

Entsprechend dem Vorschlag von Schwartz wurden auch hier die Patienten in zwei Gruppen stratifiziert:

- I. Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj. und Mädchen bzw. junge Frauen vom 13. bis 21. Lj.
- II. Jungen bzw. junge Männer vom 13. bis 21. Lj.

Die Regressionsanalyse zur Ermittlung der neuen k wurde zusätzlich getrennt für die drei Kreatinin-Bestimmungsmethoden (Jaffé, Ektachem und Creatinin plus) durchgeführt.

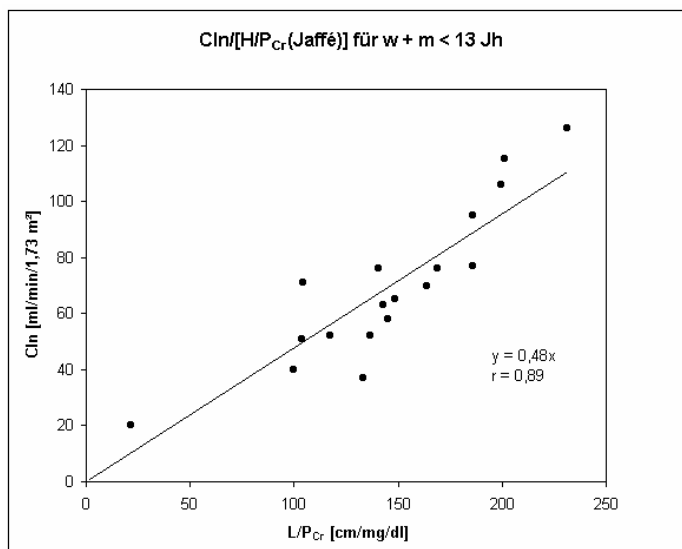
Beispielhaft für die Ermittlung der neuen Konstanten k wird nur die Grafik der Regressionsanalyse für Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lebensjahr dargestellt. Die

Kreatinin-Bestimmungsmethode war hier Jaffé (Abb. 37). Die weiteren Daten sind anschließend tabellarisch aufgeführt. Die Regression erfolgte nach der Formel:

$$f(\text{CIn}) = k \times L/P_{\text{Cr}} \quad (9),$$

wobei die Gerade durch den Ursprung gelegt wurde;  $k$  ist somit direkt als Steigung ablesbar.

Die Regressionsgerade der 18 Jungen und Mädchen im Alter zwischen dem 2. und 12. Lebensjahr, untersucht nach Jaffé, ergab die Funktion  $f(\text{CIn}) = 0,48 \times L/P_{\text{Cr}}$ . Bei sehr guter Korrelation von  $r = 0,89$  ist damit die neue Konstante für diese Patientengruppe in unserer Klinik  $k = 0,48$ , anstatt  $k = 0,55$  nach Schwartz.



**Abb. 37:** Regressionsanalyse zur Ermittlung der Konstanten  $k$  für Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj.

In Tab. 11 sind die neu ermittelten Konstanten  $k$  in Abhängigkeit von der Kreatinin-Bestimmungsmethode zusammengestellt. Die originalen „Schwartz-Konstanten“ sind zur Übersicht ebenfalls angegeben.

Die neuen  $k$  liegen deutlich niedriger als die von Schwartz vorgeschlagenen Konstanten. Bei Bestimmung der Kreatinin-Konzentration mittels Creatinin plus wurden für  $k$  nur Werte von 0,38 für Gruppe I und 0,47 für Gruppe II erhoben. Etwas höher waren die Konstanten bei Bestimmung mit Ektachem ( $k = 0,42/0,48$  für Gruppe I/II). Mit der Jaffé-Methode ließen sich Werte von 0,48 und 0,52 für Gruppe I und II erheben.

Auffällig ist zudem, dass die Differenz zwischen Gruppe I und Gruppe II bei unseren Patienten deutlich niedriger ausfiel als bei Schwartz. Bestimmt nach Jaffé betrug die Differenz zwischen Gruppe II und Gruppe I 0,04, bei Ektachem 0,06 und bei Creatinin plus 0,09. Bei Schwartz hingegen war die Differenz 0,15.



Patientengruppe	k (Jaffé)	k (Ektachem)	k (Creatinin plus)	k (Schwartz)
Gruppe I	0,48	0,42	0,38	0,55
Gruppe II	0,52	0,48	0,47	0,7

Tab. 11: Neue Konstanten k getrennt nach verschiedenen Kreatinin-Bestimmungsmethoden

#### 4.2.4.2 Bland&Altman-Plots der $CCr_{Schw}$ berechnet mit neuen k

Im folgenden Diagramm (Abb. 38) sind beispielhaft nur die Ergebnisse der  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) dargestellt. Die vollständigen Daten sind in Abb. 39 und Tab. 12 zusammen mit den ursprünglichen  $CCr_{Schw}$ -Ergebnissen dargestellt.

Die mittleren Abweichungen der neuen  $CCr_{Schw}$  von der  $CI_n$  betrugen zwischen -1 und +1 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, gegenüber -11 bis -30. Die 1,96\*SD verkleinerten sich ebenfalls. Die niedrigste Abweichung hatte die neue  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) mit 1,96\*SD von 25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> gegenüber 31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> nach der Schwartz Berechnung.

Die Abweichungen für die neue  $CCr_{Schw}$  (Ektachem) und  $CCr_{Schw}$  (Creatinin plus) betrugen jeweils 31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, gegenüber 37 bzw. 45 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit den Schwartz-Konstanten.

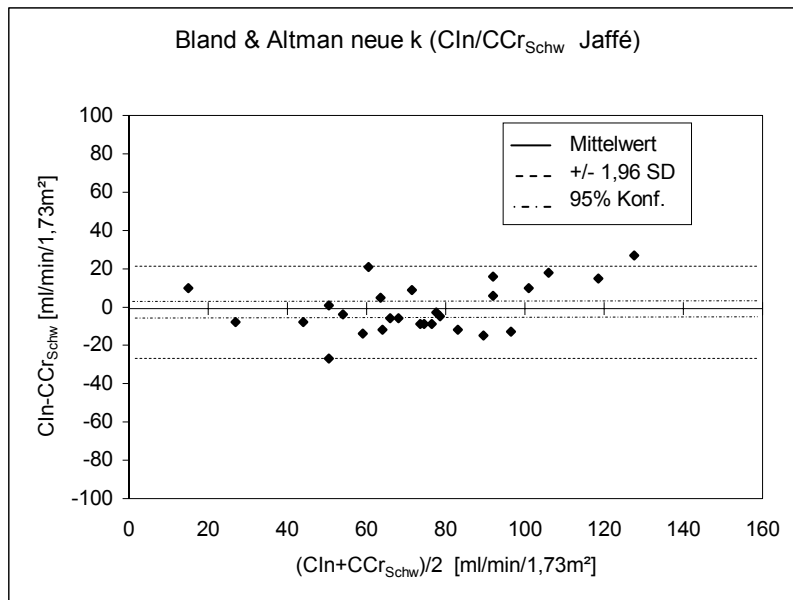
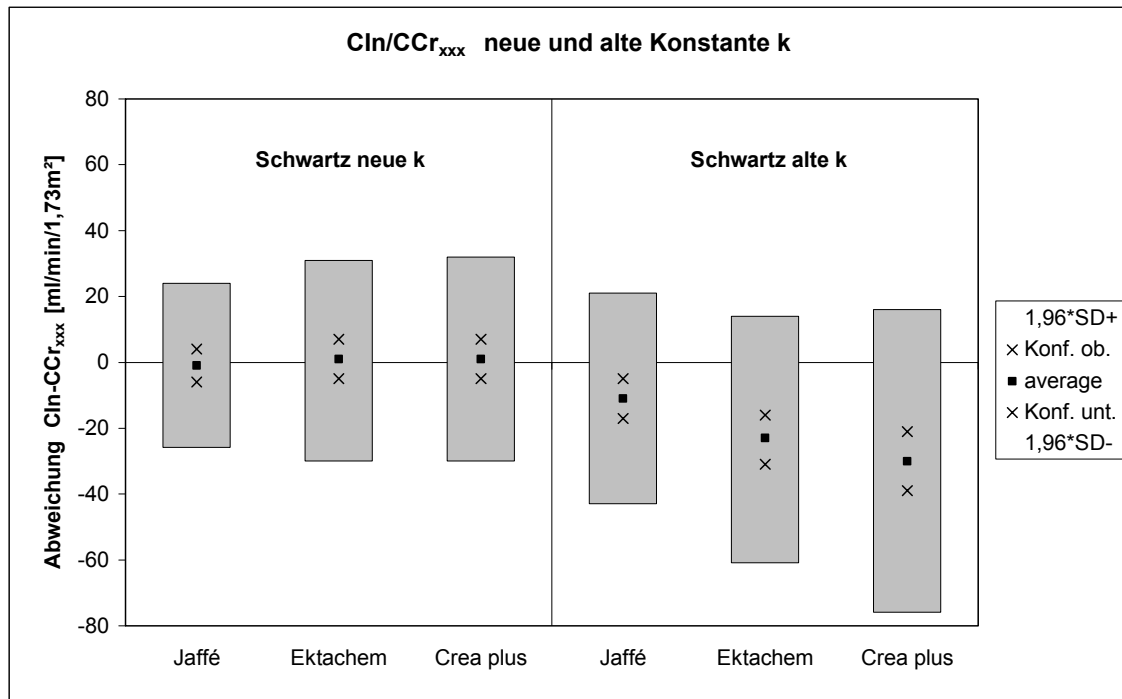


Abb. 38: Bland&Altman-Plot – Übereinstimmung zwischen  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) mit neuem k und  $CI_n$

Abb. 39: Gegenüberstellung der Ergebnisse  $CCr_{Schw}$  mit neuen und alten k

	$CCr_{Schw}$ neue k			$CCr_{Schw}$ alte k		
[ml/min/1,73m <sup>2</sup> ]	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus
<b>1,96*SD</b>	25	31	31	31	37	45
<b>95%-Konfidenz</b>	5	6	6	6	7	9
<b>+ 1,96*SD</b>	24	31	32	21	14	16
<b>ob. Konf.-Niveau</b>	4	7	7	-5	-16	-21
<b>Mittelwert</b>	-1	1	1	-11	-23	-30
<b>unt. Konf.-Niveau</b>	-6	-5	-5	-17	-31	-39
<b>- 1,96*SD</b>	-26	-30	-30	-43	-61	-76

Tab. 12: Gegenüberstellung der Ergebnisse  $CCr_{Schw}$  mit neuen und alten k

### 4.3 Ergebnisse der Tag-zu-Tag-Untersuchung bei erwachsenen Kontrollprobanden

Sechs erwachsene Kontrollprobanden wurden zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit an zwei aufeinander folgenden Tagen untersucht. Es wurde jeweils das gesamte Studienprotokoll durchgeführt. Beispielhaft sind in Abb. 40 die GFR-Werte für die Untersuchung mit der besten Übereinstimmung ( $CCr_{Schw}$  (Jaffé)) und in Abb. 41 die Untersuchung mit der schlechtesten Übereinstimmung grafisch dargestellt.

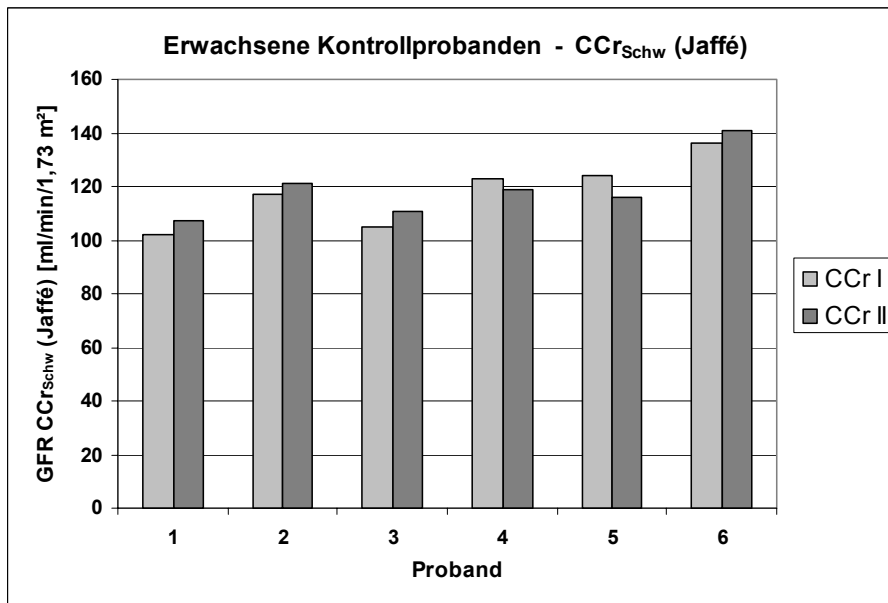


Abb. 40: Darstellung der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden; hier CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé)

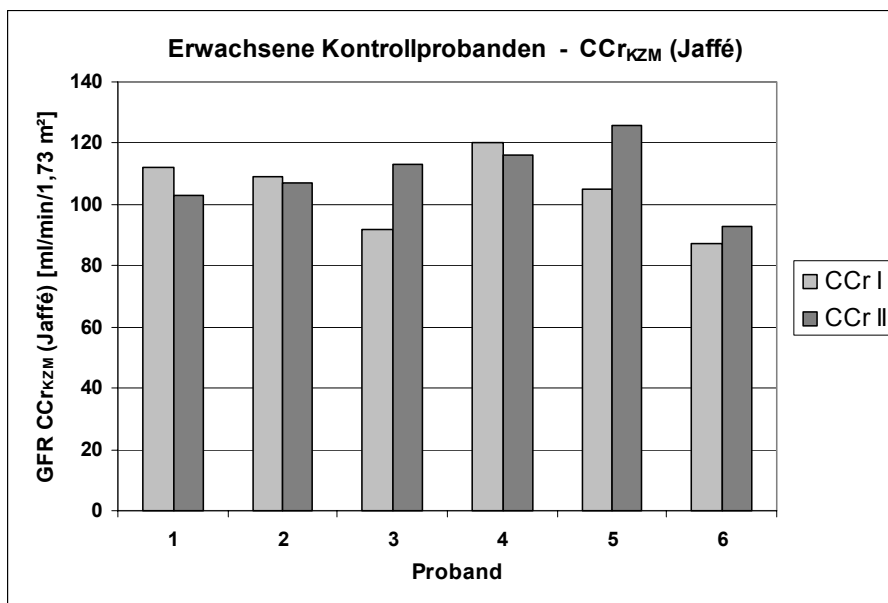
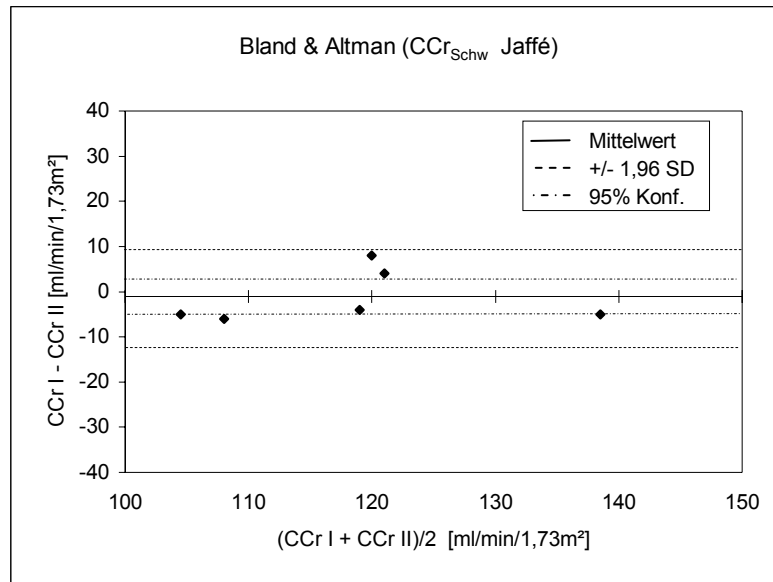


Abb. 41: Darstellung der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden; hier CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé)

Die Tag-zu-Tag-Übereinstimmungen wurden gemäß den Auswertungen der Studienpatienten in Kapitel 4.2.3 ebenfalls anhand von Bland&Altman-Plots beurteilt.

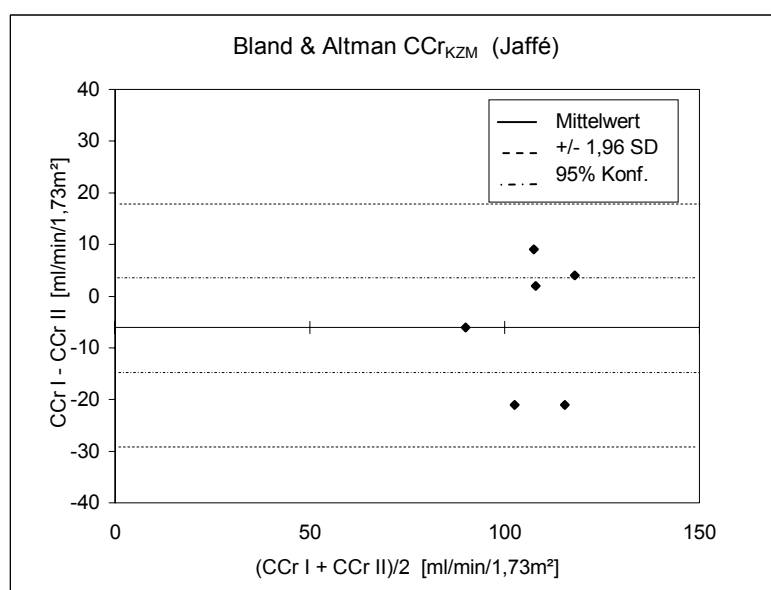
Beispielhaft werden wieder die CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) und die CCr<sub>KZM</sub> (Jaffé) als Bland&Altman-Plots grafisch dargestellt (Abb. 42 und Abb. 43). Die zweifache

Standardabweichung vom Mittelwert beträgt bei der  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) nur 10 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Diese Abweichung ist etwa identisch mit den Werten der Referenzmethode. Die Konfidenzintervalle sind hier wenig aussagekräftig, da durch die geringe Fallzahl ein breites Intervall berechnet werden musste. Der Konfidenzbereich ist etwa identisch mit der einfachen Standardabweichung.



**Abb. 42:** Bland&Altman-Plot  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden

Die Reproduzierbarkeit für die  $CCr_{KZM}$  (Jaffé) ist deutlich schwächer. Die zweifache Standardabweichung erreicht mit 24 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> etwa doppelt so hohe Werte wie bei der  $CCr_{Schw}$  (Jaffé).



**Abb. 43:** Bland&Altman-Plot  $CCr_{KZM}$  (Jaffé) der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden

In Tab. 13 und Abb. 44 sind die gesamten Ergebnisse tabellarisch und grafisch dargestellt. Die Referenzmethode CIn hat am zweiten Tag durchschnittlich einen Abfall der GFR um  $6 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  ergeben. Die zweifache Standardabweichung betrug  $12 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Beide Werte entsprechen der erwarteten Ungenauigkeit der Methode von etwa 10%. Ob es sich dabei um intraindividuelle Varianzen oder um Messungenauigkeiten handelt wird im Kapitel 5.6 weiter diskutiert.

Bezüglich der Systematik der Abweichungen von Tag I zu Tag II zeigt sich für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  ein Abfall der mittleren GFR-Werte unabhängig der Kreatinin-Bestimmungsmethode. Die GFR liegt am zweiten Tag zwischen  $6 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Jaffé) und  $13 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Ektachem) niedriger als am ersten Tag.

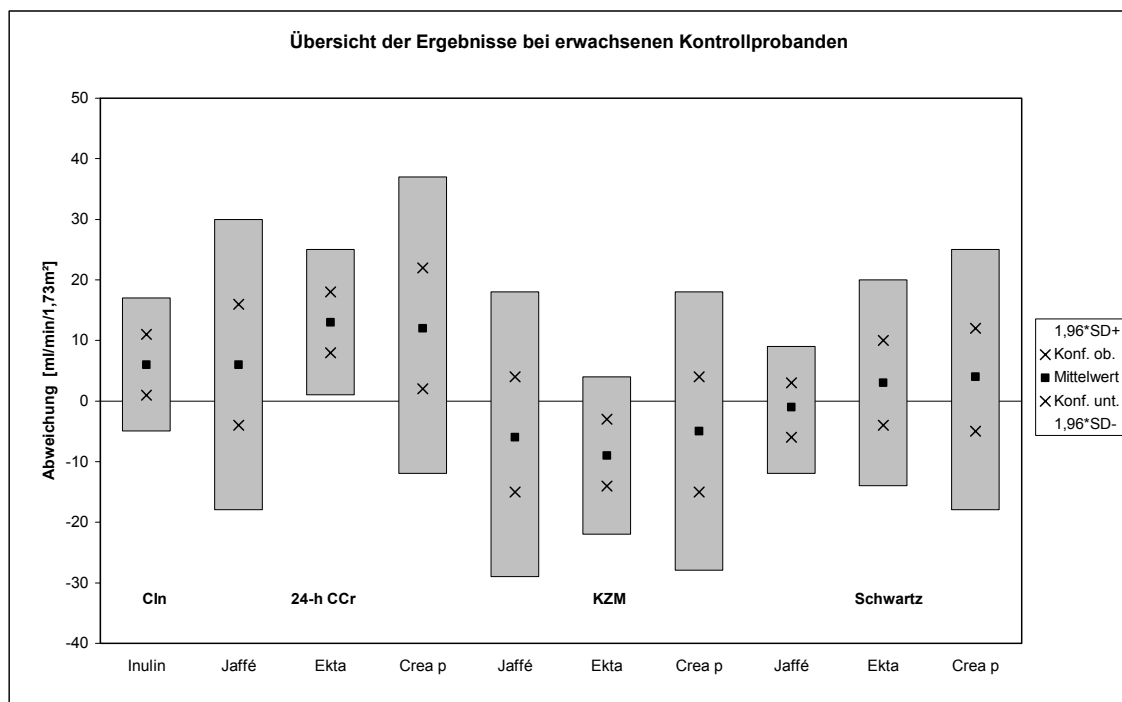
Die geringste Streuung der Werte um den Mittelwert ergab innerhalb der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  die Bestimmung mit Ektachem. Die zweifache Standardabweichung betrug nur  $12 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Sowohl für die Bestimmung nach Jaffé als auch nach Creatinin plus fielen die zweifachen Standardabweichungen mit  $24 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  doppelt so hoch aus wie bei der Methode zuvor.

Die  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  ergab umgekehrt zur  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  am zweiten Tag höhere Werte; dies ebenfalls unabhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode. Die GFR stieg bei der  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Creatinin plus) um  $5 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , bei der  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Jaffé) um  $6 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  und bei der  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Ektachem) um  $9 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die Streuungen waren denen der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  identisch. Die geringste Streuung zeigte die  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Ektachem) mit einer zweifachen Standardabweichung von nur  $14 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die Abweichungen für die  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Jaffé) und  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Creatinin plus) ergaben jeweils  $24 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .

Die  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  zeigte kaum Änderungen von Tag I zu Tag II. Bei der  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Jaffé) stieg die GFR durchschnittlich um  $1 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Bei der  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Ektachem) fiel sie um  $3 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , bei der  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Creatinin plus) um  $4 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die Streuung, gemessen als zweifache Standardabweichung, fiel für die  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Jaffé) mit nur  $10 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , am geringsten aus. Sie lag sogar noch unter der Referenzmethode (CIn). Die Streuung für die  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Ektachem) betrug  $16 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  und für die  $\text{CCr}_{\text{Schw}}$  (Creatinin plus)  $22 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .

[ml/min/1,73m <sup>2</sup> ]	CCr <sub>24-h</sub>			CCr <sub>KZM</sub>			CCr <sub>Schw</sub>			CIn
	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus	
<b>SD</b>	12	6	12	12	7	12	5	8	11	6
<b>95%-Konfidenz</b>	10	5	10	9	5	9	4	7	9	5
<b>+ 1,96*SD</b>	30	25	37	18	4	18	9	20	25	17
<b>ob. Konf.-Niveau</b>	16	18	22	4	-3	4	3	10	12	11
<b>Mittelwert</b>	6	13	12	-6	-9	-5	-1	3	4	6
<b>unt. Konf.-Niveau</b>	-4	8	2	-15	-14	-15	-6	-4	-5	1
<b>- 1,96*SD</b>	-18	1	-12	-29	-22	-28	-12	-14	-18	-5

**Tab. 13: Übersicht der Bland&Altman-Plots zu den Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden**



**Abb. 44: Graphische Darstellung der Daten der Bland&Altman-Plots.**

## **5 Diskussion**

### **5.1 Studienprotokoll**

Ziel des Studienprotokolls war es, eine größtmögliche Standardisierung der Untersuchungen zu erreichen, um die Vielzahl der Fehlermöglichkeiten und Einflussgrößen möglichst gering zu halten.

Während der Inulin-Clearance sollten die Patienten bereits mindestens eine Stunde vor Beginn der Untersuchung im Bett bleiben. Orthostatische Einflüsse auf die Nierendurchblutung und somit auf die GFR sollten so vermieden werden (Duranteau J et al. 1995; Reinhart GA et al. 1996). Nur zur Miktion durften die Patienten zur nahe gelegenen Toilette gehen.

Aus gleichem Grund wurden die Patienten standardisiert vorhydriert. Mindestens eine Stunde vor Beginn der Untersuchung sollten sie 20 ml/h/kg KG in Form von Mineralwasser zu sich nehmen. Während der Untersuchungen wurde die Hydrierung mit 5 ml/h/kg KG aufrechterhalten.

Um den Einfluss der funktionellen Reserve zu minimieren bekamen die Patienten lediglich ein proteinarmes Frühstück. Verschiedene Autoren beschrieben GFR-Anstiege unter Proteinlast von über 100% (Kleinknecht C et al. 1990; Mayersohn M et al. 1983). Die Durchführung des Studienprotokolls war für Patienten und für das betreuende medizinische Personal eine beträchtliche Belastung. Häufiges zeitgerechtes Wasserlassen und mehrfache Blutentnahmen erforderten eine gute Koordination und Logistik innerhalb der Station und der verschiedenen Laboratorien.

### **5.2 Probleme der statistischen Auswertung vergleichender Studien**

Vergleichende Studien zur Beurteilung neuer Untersuchungsmethoden sind Grundvoraussetzung für die klinische Praxis. Regelmäßig stellt sich die Frage, ob eine neue Methode, die einfacher, billiger, schneller oder weniger belastend für den Patienten oder das medizinische Personal ist, ähnlich gute oder sogar bessere Ergebnisse liefert als die alte Methode.

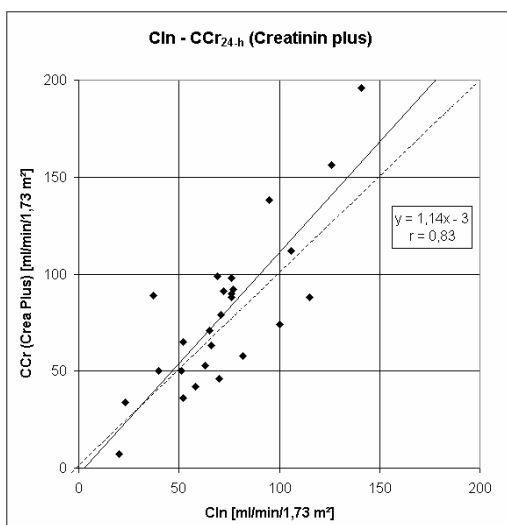
Welche statistischen Auswertungen methodisch korrekt sind, um eine realistische und klinisch relevante Einschätzung der neuen Methode zu erhalten, ist in der Literatur nur unzureichend geklärt.

Als Standardmethoden werden in fast allen vergleichenden Studien Korrelationen und Regressionen mit Beschreibung der Signifikanzniveaus verwendet. Bland & Altman veröffentlichten 1986 im Lancet eine ausgezeichnete Übersichtsarbeit zu diesem Thema, die einen Großteil der veröffentlichten Studien in Frage stellt.

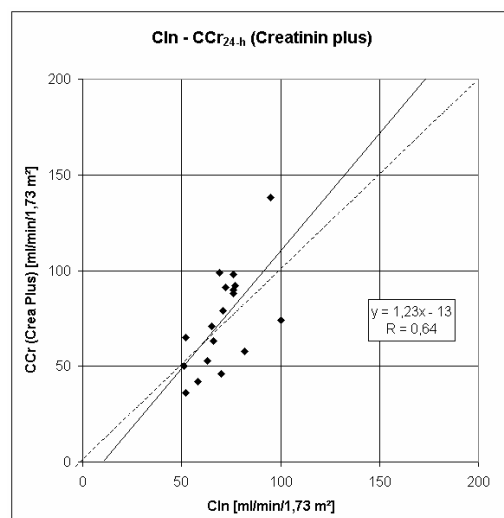
Warum aber ist es statistisch unangebracht oder sogar falsch, bei vergleichenden Studien Korrelationsberechnungen anzustellen?

Korrelationen beschreiben den Zusammenhang zweier Methoden, nicht aber die Übereinstimmung dieser. Übereinstimmung besteht nur, wenn sich alle Wertepaare entlang der line of Identity aufreihen. Tun sie das nur mäßig, kann sich trotzdem eine ausgezeichnete Korrelation ergeben, wie auch diese Studie zeigen konnte. Die Kurz-Zeit-Clearance zeigte für die Creatinin-plus-Bestimmung eine gute Korrelation mit  $r = 0,85$  gegenüber der CIn. Jedoch gab es teilweise Abweichungen der einzelnen Wertepaare von mehr als 100%. Zum Beispiel hatte der Patient Nr. 25 eine tatsächliche GFR, bestimmt durch die Inulin-Clearance, von 72 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, während die Kurz-Zeit-Clearance eine GFR von 154 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ergab. In diesem Fall vor allem klinisch relevant, da es sich in Wirklichkeit um eine mäßige Einschränkung der Nierenfunktion handelte, die durch die neue Methode nicht erkannt worden wäre.

Ein weiterer entscheidender Punkt ist die Abhängigkeit der Korrelationen von der Breite der Punktwerte über die x-Achse. Bei dem Vergleich zwischen CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus) und der CIn (Abb. 45) mit einem guten Korrelationskoeffizienten von 0,85 liegen die ermittelten Punkte CIn, zwischen 20 und 141. Bei reduziertem CIn-Bereich, z.B. zwischen 50 bis 100 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, ergäbe sich nur noch eine Korrelation von  $r = 0,64$  (Abb. 45 und Abb. 46).



**Abb. 45: Korrelation CIn und CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus)**



**Abb. 46: Korrelation CIn und CCr<sub>24-h</sub> (Creatinin plus), GFR 50 – 100 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>**



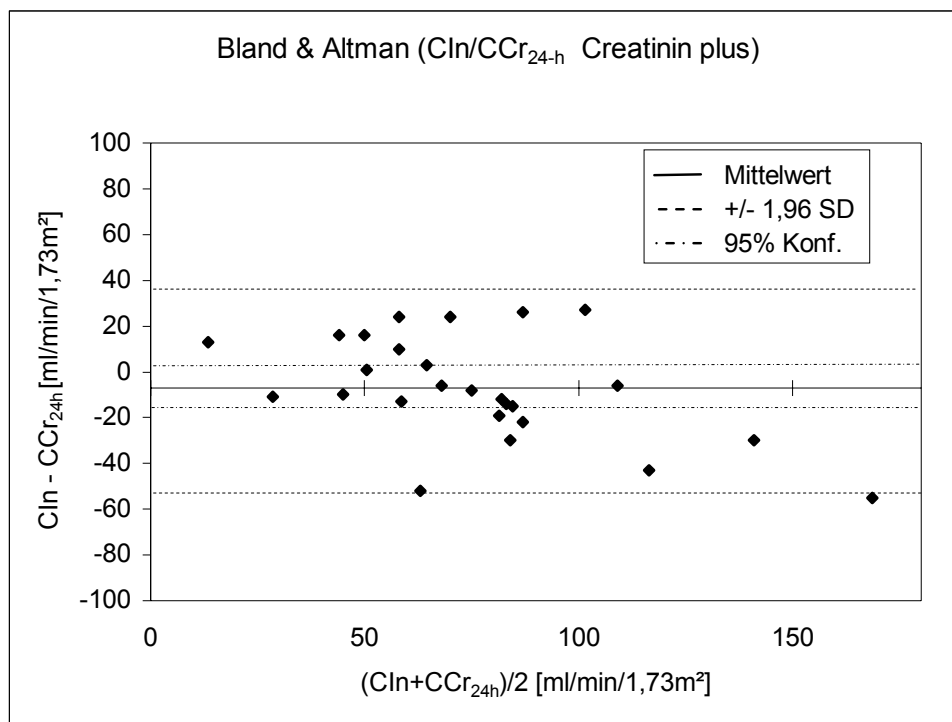
Eine weitere Problematik stellen die häufig berechneten Signifikanzniveaus dar.

Signifikanzniveaus (p-Werte) beschreiben die Wahrscheinlichkeit, mit der eine Null-Hypothese eintritt.

Die Null-Hypothese heißt bei vergleichenden Studien immer: Die Methoden haben *keinen* linearen Zusammenhang. Es ist also sehr unwahrscheinlich, dass eine neue Methode, die das gleiche Untersuchungsziel hat wie eine alte und diese eventuell ersetzen soll, nicht in linearem Zusammenhang steht. Das heißt umgekehrt, dass die p-Wert-Berechnung zur Beschreibung des Signifikanzniveaus überflüssig ist.

Bland & Altman stellten 1986 im Lancet eine statistische Methode vor, die vergleichende Studien grafisch darstellt.

Als Beispiel wird die 24-h-Kreatinin-Clearance bestimmt mit Creatinin plus abgebildet. (Abb. 47)



**Abb. 47: Vergleich CIn und CCr<sub>24h</sub> (Creatinin plus), dargestellt als Bland&Altman-Plot**

Hier werden auf der x-Achse die Mittelwerte der zu vergleichenden GFR-Methoden aufgetragen, hier  $(CIn + CCr_{24h} \text{ (Creatinin plus)})/2$ . Die mittlere Differenz zwischen CIn und CCr<sub>24h</sub> (Creatinin plus) beträgt  $-7 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Die x-Achse kreuzt entsprechend die y-Achse.

Auf der y-Achse werden die Differenzen der beiden GFR-Methoden aufgetragen, hier ( $\text{CIn} - \text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Creatinin plus)) Auf diese Weise lassen sich direkt die Abweichungen der neuen Methode ablesen.

Übersichtlicher wird diese grafische Darstellung durch Berechnung der 1,96-fachen Standardabweichungen sowie der 95%-Konfidenzintervalle:

Die 1,96-fache Standardabweichung, als gestrichelte Linie gezeichnet, liefert das Intervall, in dem 95% der Abweichungen vom Mittelwert der Untersuchungspatienten liegen. In oben genanntem Beispiel betragen die Grenzen 37 bis -52 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dies lässt noch keine Aussage für zukünftige Untersuchungen zu. Dafür wird das 95%-Konfidenzintervall benötigt. In unserem Beispiel betragen die Grenzen 2 bis -16 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Folgende Aussagen lassen sich ableiten:

1. Aufgrund der Studie kann keine präzise Aussage über die mittlere Abweichung getroffen werden. Lediglich der zu erwartende Bereich von 2 bis -16 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ist vorhersagbar.
2. Das Konfidenzintervall bezieht sich nicht auf den einzelnen Patienten, sondern auf die Grundgesamtheit aller potenziellen Patienten.
3. Eine *falsche* Interpretation wäre: Bei 95% aller zu untersuchenden Patienten weicht die neue Methode zwischen 2 bis -16 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> von der Referenzmethode ab. Wie man bei den Studienpatienten gesehen hat, können entsprechend der 1,96-fachen Standardabweichungen die Abweichungen beträchtlich höher liegen.
4. Eine *richtige* Interpretation ist: Die durchschnittliche mittlere Abweichung der  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  (Creatinin plus) von der CIn beträgt zwischen 2 und -16 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.
5. Die Breite des Konfidenzintervalls ist abhängig von der Fallzahl. Mit zunehmender Fallzahl wird das Intervall schmaler, mit abnehmender Fallzahl wird das Intervall breiter.

### **5.3 Single-Injection-Inulin-Clearance als Referenzmethode**

#### **5.3.1 Single-Injection-Inulin-Clearance**

Die ursprüngliche renale Inulin-Clearance, von Shannon & Smith 1935 entwickelt (Shannon JA et al. 1935), gilt heute noch als Referenzmethode zur Bestimmung der GFR. In der vorliegenden Studie wurde die Single-Injection-Inulin-Clearance als weiterentwickelte Methode verwendet. Hierbei ist die Urinsammlung nicht mehr nötig.

In verschiedenen Studien konnte gute Übereinstimmungen mit der klassischen renalen Inulin-Clearance gezeigt werden (Broberger U 1973; Florijn KW et al. 1994; Muller-Suur R et al. 1983; Rosenbaum JL et al. 1973). Ein weiterer Unterschied zur klassischen Methode ist die Verwendung von Sinistrin, einem synthetischen Polyfructosan, anstatt des natürlich vorkommenden Inulins. Auch hier konnten in verschiedenen Studien die entscheidenden Eigenschaften für einen GFR-Marker nachgewiesen werden: ausschließliche glomeruläre Filtration, keine tubuläre Sekretion oder Resorption (Hart O 1963; Mertz DP 1963). Ein Vorteil des neuen Polyfructosan ist die sehr gute Wasserlöslichkeit. Während das natürliche Inulin bei hohen Konzentrationen präzipitiert, lässt sich das Sinistrin ohne Probleme auch in kleinen hochkonzentrierten Mengen applizieren (Mertz DP 1963).

### 5.3.2 Inulin-Analytik

Die von Kühnle et al. 1992 entwickelte Bestimmungsmethode des synthetischen Polyfructosans Sinistrin erfolgt im Gegensatz zu früheren Methoden ohne Deproteinisierung. Gerade dieser Schritt war früher verantwortlich für die Aufwendigkeit der Methode. Zusätzlich präzipitierte die Deproteinisierung einen geringen unbestimmten Anteil des Inulins, was zur mangelhaften Präzision vor allem in geringen Konzentrationsbereichen führte. Während auch bei der alten Methode die Variationskoeffizienten für hohe Konzentrationen von  $> 0,2$  mg/ml etwa bei 3% lagen, verschlechterten sich die Ergebnisse bei Konzentrationen  $< 0,02$  mg/ml meist über 15% (Morris K et al. 1991). Dies ist von entscheidender Bedeutung, da die Inulin-Konzentrationen nach vier Stunden p.i. zwischen 0,03 und 0,01 mg/ml betragen und hier für die Extrapolierung der Eliminationsphase hauptverantwortlich sind.

Die Variationskoeffizienten von Kühnle et al. (1992) betrugen dagegen für niedrige Inulin-Konzentrationen ( $< 0,02$  mg/ml) zwischen 0,8 und 1%.

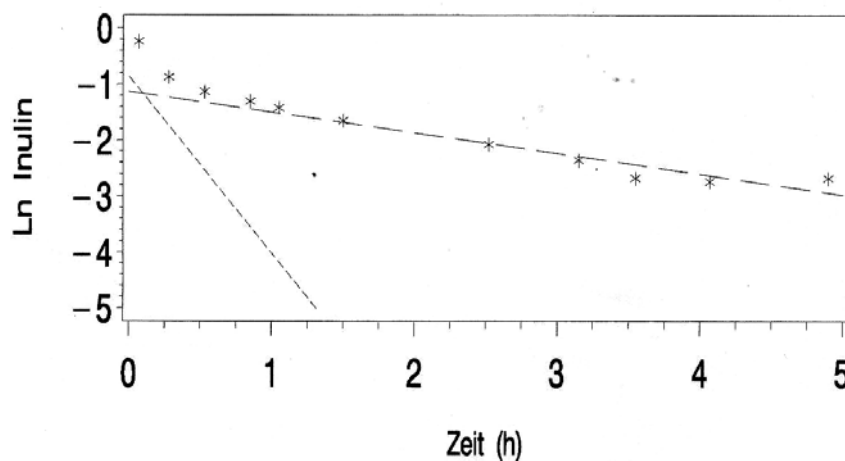
Die Variationskoeffizienten der vorliegenden Studie betrugen für Inulin-Konzentrationen von 1 mg/ml 3,25% und für 0,1 mg 3,34%. Damit entsprechen sie den Richtlinien für Methoden an Autoanalysern, die einen VK von  $< 10\%$  erfüllen müssen.

### 5.3.3 Berechnung der Single-Injection-Inulin-Clearance

Zur Berechnung der Single-Injection-Inulin-Clearance wurde das von Sapirstein LA et al. (1955) veröffentlichte 2-Kompartiment-Modell verwendet, bei dem die Plasma-Elimination in zwei monoexponentielle Funktionen aufgeteilt wird.

Die erste Phase, die Distributionsphase, dauert etwa 60 Minuten und entspricht der Inulinverteilung vom Intravasalraum in den Extrazellularraum. Die Anfangskonzentrationen p.i. reduzieren sich innerhalb dieser Zeit auf etwa ein Viertel bis ein Fünftel. Im Anschluss daran folgt die Eliminationsphase, die der tatsächlichen Exkretion des Inulins entspricht. Donaths 1971 veröffentlichte Studie konnte präzise Werte für das 2-Kompartiment-Modell an 1200 Single-Injection-Inulin-Clearances nachweisen. Die GFR-Werten lagen zwischen 7 und 172 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, schlossen also den gesamten Nierenfunktionsbereich ein (Donath A 1971). Weitere Autoren bestätigten die guten Ergebnisse (Sakai T et al. 1969; Vogeli B et al. 1971).

Bei einigen Patienten kam es allerdings zu einem Wiederanstieg der Inulin-Konzentration nach etwa vier Stunden. Beispielhaft ist ein solcher Konzentrationsverlauf in Abb. 48 dargestellt.



**Abb. 48:** Inulin-Konzentrationen bei Patient 46 mit einer GFR von 126 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

Vermutlich handelt es sich bei diesem Wiederanstieg des Inulins um den Einfluss des 3. Kompartiments, also eine Rückverteilung aus schlecht durchbluteten Gebieten wie Fett, klinisch unauffälligen Ödemen oder der Plasmaeiweißbindung. Gerade letzteres vermuteten Morris K et al. in ihrem Brief an Prescott von 1991, erschienen in Clinical Science (Prescott LF et al. 1991).

## 5.4 Kreatinin-Analytik

Die Kreatinin-Bestimmungen aus sämtlichen Urin- und Serum-Proben wurden bei der vorliegenden Studie im Zentrallabor, Abteilung Klinische Chemie, der Universitäts-

klinik Marburg durchgeführt. Jede Probe wurde durch drei verschiedene Methoden bestimmt. Diese waren:

1. Jaffé-Methode: klassische Methode, als „rate-blanked“ Reaktion mit Picrinsäure; Hersteller Boehringer-Mannheim am Autoanalyser Hitachi 917
2. Ektachem: trocken-enzymatische single-slide Methode; Hersteller Johnson & Johnson am Kodak Autoanalyser
3. Creatinin plus: nass-enzymatische Methode; Hersteller Boehringer-Mannheim am Autoanalyser Hitachi 917

Für alle drei Methoden bestanden sehr gute Variationskoeffizienten der Qualitätskontrollen. Erwartungsgemäß waren die kleinsten VKs für die Creatinin-plus-Methode ermittelt worden. Abhängig vom Kontrollmedium lagen die Werte zwischen 0,91 und 0,76% und bestätigten so die vom Hersteller angegebene Vergleichbarkeit mit den Referenzmethoden HPLC oder ID-GC MS.

Ähnlich gute Werte ergaben die Qualitätskontrollen für Kodak-Ektachem. Serum-Hoch- und -Niedrig-Kontrolle hatten einen VK von 1,05%. Diese Ergebnisse entsprachen einer Studie von Bennett et al., die VKs von kleiner 2,5% für Serum-Kreatinin ermittelten (Bennett LN et al. 1991). Eine weitere Arbeit (Vassault A et al. 1992), in der 16 verschiedene Kreatinin-Bestimmungsmethoden im Serum mit HPLC und ID GC/MS verglichen wurden, ermittelte für Kodak Ektachem in Abhängigkeit der Kreatinin-Konzentrationen unterschiedliche VK. Insgesamt waren die VK jedoch höher als in der vorliegenden Studie, bzw. in der vorher genannten von Bennett et al.. Letzterer entsprechend zeigte Ektachem die besten Ergebnisse bei niedrigen Kreatinin-Konzentrationen. Die Niedrigkontrolle (0,9 mg/dl) ergab einen VK von 3%. Deutlich höher war der VK für die Mittelkontrolle (6,5% bei 1,73 mg/dl).

Die Urin-Analytik für Ektachem ergab deutlich höhere VK als für die Serum-Analytik. Die internen Präzisionskontrollen betrugen für die Hochkontrolle 4,65% und für die Niedrigkontrolle 2,19%. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer spanischen Studie von Ricos et al. (1993), die verschiedenen Urin-Parameter auf ihre diagnostische Qualität hin prüften. Während für Eiweiß und Natrium gute Ergebnisse hinsichtlich

Präzision und Richtigkeit zu ermitteln waren, war die Kreatinin-Analytik unbefriedigend (Ricos C et al. 1994).

Die Variationskoeffizienten der Jaffé-Methode waren erwartungsgemäß höher, als für die beiden vorangegangenen Methoden Creatinin plus und Ektachem. Die Hochkontrollen betrugen 1,94%, die Niedrigkontrollen 2,62%. Unwesentlich höher zeigten sich die Urin-Hoch- und -Niedrig-Kontrollen. Hier ergaben sich Werte von 3,00% und 2,32%. Diese Werte entsprechen den Angaben in der Literatur. Die bereits zitierte Studie von Vassault et al. (1992) ermittelte Variationskoeffizienten für Serum-Kreatinin zwischen 2,5% und 3%, abhängig von der Konzentration der Kontrollsubstanz.

Im Folgenden wird auf den Vergleich der durchschnittlichen Kreatinin-Werte der drei untersuchten Methoden (Jaffé, Ektachem, Creatinin plus) eingegangen.

Sowohl für Serum I als auch für Serum II wurden 27 Serum-Kreatinin-Konzentrationen bestimmt (Abb. 11). Es bestätigte sich die in der Literatur bekannte Überschätzung der Jaffé-Methode, die durch so genannte Nicht-Kreatinin-Chromogene verursacht wird (Boyne P et al. 1985; Greenwald I 1925). Dies sind bis zu 50 verschiedene endogene Substanzen, die im kinetischen Reaktionsablauf entweder früher oder später als Kreatinin mit Picrinsäure reagieren und falsch positive Werte verursachen. Dazu gehören z. B. Glukose, Acetoacetat, Hämoglobin, Ascorbinsäure, verschiedene Medikamente u. a.. Nur im mittleren Bereich reagiert fast ausschließlich Kreatinin. Vor zwei Jahren hat deshalb die Firma Boehringer-Mannheim einen Kompensationswert von -0,3 mg/dl für alle Serum-Kreatinin-Bestimmung eingeführt. Eine Studie von Mazzachi BC et al. (2000) konnte an 562 Patienten im Alter zwischen 18 und 70 Jahren sehr gute Übereinstimmungen mit der Creatinin-plus-Methode nachweisen. An pädiatrischen Patientenkollektiven wurde dieser Kompensationswert nicht studiert. Es ist jedoch offensichtlich, dass diese Methode für Kinder ungeeignet ist. So hätte zum Beispiel ein nierengesunder Säugling mit einem seither gemessenen Kreatinin von 0,35 mg/dl, korrigiert nur noch einen Kreatinin-Wert von 0,05 mg/dl. In Anbetracht von tatsächlichen enzymatischen Referenzwerten sind dies unrealistisch niedrige Werte.

Seit einigen Jahren wird der Jaffé-Test der Firma Boehringer-Mannheim im so genannten „rate-blanked“-Verfahren durchgeführt, das im Methodenteil (Kapitel 3.6.1.1) näher vorgestellt worden ist. Durch dieses Verfahren soll die bekannte Störung

durch die gelbe Eigenfarbe des Bilirubins deutlich vermindert werden. Allerdings ist auch diese Variation der Methode problematisch für neonatologische Patienten. Die teilweise sehr hohen Bilirubinkonzentrationen, aber auch das HbF der Neugeborenen können zu falsch positiven bis hin zu deutlich falsch negativen Kreatinin-Konzentrationen führen (Mazzachi BC et al. 1998).

In der vorliegenden Studie betrug die mit Jaffé bestimmte durchschnittliche Kreatinin-Konzentration von Serum I 1,02 mg/dl. Es lag damit um 0,07 mg/dl höher als die mit Ektachem ermittelten Werte und 0,12 mg/dl höher im Vergleich mit Creatinin plus. Etwa identische Unterschiede fanden sich bei Serum II. Die Jaffé-Bestimmung ergab dort eine Kreatinin-Konzentration von 1,00 mg/dl und lag damit 0,05 mg/dl höher als die Ektachem-Bestimmung und 0,12 mg/dl höher als die Creatinin-plus-Bestimmung.

Die Differenz zwischen Ektachem und Creatinin plus lässt sich nicht eindeutig klären. Bekanntermaßen misst Ektachem falsch positive Ergebnisse bei hohen Albumin- und Cephalosporin-Konzentrationen im Serum und leicht falsch negative Werte bei hohen Bilirubinkonzentrationen (Vassault A et al. 1992). Beides war für die Studienpatienten nicht der Fall. Dagegen ist der Creatinin-plus-Test insgesamt sehr störunanfällig. Selbst hohe Triglycerid-Konzentrationen von 1100 mg/dl nehmen keinen Einfluss auf die exakte Bestimmung der Kreatinin-Konzentration.

Ein erstaunliches Ergebnis zeigten die durchschnittlichen Kreatinin-Konzentrationen der Urin-Bestimmungen (Urin I, II, III und 24-h-Urin). Die Werte stellten sich in umgekehrter Weise zu den Serum-Werten dar (Abb. 12). Hier bestimmte die Referenzmethode Creatinin plus die höchsten Konzentrationen. Ektachem bestimmte das Kreatinin zwischen 1,1 und 2,6 mg/dl niedriger. Noch niedrigere Werte wurden durch Jaffé ermittelt. Hier ergaben sich Unterschiede zwischen 4,1 und 7,2 mg/dl.

Es ist für die Jaffé-Methode ein bekanntes Phänomen, dass im Gegensatz zu den falsch-hohen Kreatinin-Konzentrationen, die durch Nicht-Kreatinin-Chromogene verursacht sind, die Ermittlung der Kreatinin-Konzentrationen im Urin keiner systematischen Abweichung folgt. Nicht-Kreatinin-Chromogene sind im Urin in nur sehr geringer Konzentration enthalten (Owen JA et al. 1954). Dies sollte allerdings eine gute Übereinstimmung mit der Creatinin-plus-Methode erbringen. Warum die Werte noch darunter liegen, konnte nicht geklärt werden.

Welche Folgen diese Erkenntnisse für die Praxis haben, wird in den folgenden Kapiteln gemeinsam mit den verschiedenen GFR-Untersuchungsmethoden diskutiert.

## 5.5 Diskussion der verschiedenen Kreatinin-Clearance-Methoden

Die drei folgenden GFR-Bestimmungsmethoden wurden mit der Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn) als Referenzmethode verglichen:

- 24-h-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>24-h</sub>)
- Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>KZM</sub>)
- Schwartz-Clearance (CCr<sub>Schw</sub>)

Bei jeder Methode wurde das Kreatinin durch drei verschiedene Analyseverfahren ermittelt (s. Kapitel 5.4):

- Jaffé
- Ektachem
- Creatinin plus

Daraus ergeben sich neuen verschiedene GFR-Bestimmungen:

	24-h Kreatinin-Clearance	Kurz-Zeit-Clearance	Schwartz-Clearance
<b>Jaffé</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Jaffé)	CCr <sub>KZM</sub> (Jaffé)	CCr <sub>Schw</sub> (Jaffé)
<b>Ektachem</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Ektachem)	CCr <sub>KZM</sub> (Ektachem)	CCr <sub>Schw</sub> (Ektachem)
<b>Creatinin plus</b>	CCr <sub>24-h</sub> (Creatinin plus)	CCr <sub>KZM</sub> (Creatinin plus)	CCr <sub>Schw</sub> (Creatinin plus)

**Tab. 14:** Übersicht über die GFR-Bestimmungen

Insgesamt ist keine Methode in der Lage, die tatsächliche GFR zuverlässig zu bestimmen.

Die Streuungen der ermittelten Werte um die tatsächliche GFR betrugen, gemessen an der 2-fachen Standardabweichung, zwischen +/-32 und +/-54 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Für alle neun Methoden gilt ein hohes Risiko der Fehleinschätzung der GFR. Eine beginnende Nierenfunktionseinschränkung ist nicht zuverlässig nachzuweisen.

Wenn allerdings auf ein aufwendiges Clearance-Verfahren, wie die Inulin-Clearance oder die Cr-EDTA-Clearance, verzichtet werden kann, zeigt die GFR-Berechnung durch die Schwartz-Formel mit der Kreatinin-Bestimmung nach Jaffé (CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé)) die besten Ergebnisse.



### 5.5.1 Schwartz-Clearance ( $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ )

Die ersten Befürworter der Formelberechnungen zur Bestimmung der GFR waren Schwartz et al. und Counahan et al. für Kinder sowie Cockcroft et al. für Erwachsene (Cockcroft DW et al. 1976; Counahan R et al. 1976; Schwartz GJ et al. 1976).

Die GFR-Bestimmung bei Kindern aus dem alleinigen Serum-Kreatinin ( $\text{P}_{\text{Cr}}$ ) ist im Gegensatz zu erwachsenen Patienten nicht möglich. Die  $\text{P}_{\text{Cr}}$ -Konzentration hängt zum einen von der Kreatinin Produktion ab, also von der Muskelmasse und der Zufuhr von außen, zum anderen von der Elimination, also der Nierenfunktion selbst.

Beim Erwachsenen kann die Muskelmasse als konstant angesehen werden, so dass die  $\text{P}_{\text{Cr}}$  lediglich von der Zufuhr und von der Nierenfunktion abhängig ist. Die Kreatinin-Zufuhr kann durch Untersuchungsprotokolle standardisiert werden. Ein Anstieg der Kreatinin-Konzentration im Serum spiegelt somit zuverlässig eine Einbuße der Nierenfunktion wider.

Beim Kind hingegen steigen die Muskelmasse und damit die Kreatinin-Produktion mit zunehmendem Alter und abhängig vom Geschlecht. Gleichzeitig steigt die GFR in den ersten Lebensjahren an, und damit die relative Kreatinin-Exkretion (Hadj-Aissa A et al. 1994). Abgesehen von der frühen Neonatalperiode, in der maternales Kreatinin bis zu einem „steady-state“ ausgeschieden wird, bleibt die  $\text{P}_{\text{Cr}}$  innerhalb der ersten zwei, selten bis zum vierten Lebensjahr stabil. Das bedeutet angesichts der Formel (11), dass die Zunahme an Muskelmasse proportional zur Zunahme der GFR steigt:

$$\text{GFR} = \frac{V_{\text{U}} \times U_{\text{Cr}}}{\text{P}_{\text{Cr}}} = \frac{\text{Kreatinin-Exkretion}}{\text{P}_{\text{Cr}}} \quad (12)$$

Erst nach Abschluss des zweiten Lebensjahres steigt das  $\text{P}_{\text{Cr}}$  als Ausdruck der Zunahme der Muskelmasse bis zum Erreichen des Erwachsenenalters stetig an. Die GFR bleibt dabei zur Körperoberfläche korrigiert gleich (Schwartz GJ et al. 1987).

Aufgrund dieser komplexen Zusammenhänge ist es also beim Kind unmöglich, aus einem  $\text{P}_{\text{Cr}}$ -Anstieg den Nierenfunktionsverlust zu definieren.

Um den alters- und geschlechtsabhängigen Veränderungen Rechnung zu tragen, entwickelte Schwartz et al. 1976 erstmals seine durch Regressionsanalysen ermittelte Formel zur Berechnung der GFR:

$$\text{GFR [ml/min} \times 1,73\text{m}^2] = \frac{k \times L [\text{cm}]}{\text{P}_{\text{Cr}} [\text{mg/dl}]} \quad (4),$$

wobei „L“ die Körperlänge und „P<sub>Cr</sub>“ die Plasma-Kreatinin-Konzentration ist. Die Konstante „k“ wurde durch lineare Regression als Funktion L/P<sub>Cr</sub> von CCr<sub>24-h</sub> geometrisch ermittelt, wobei Schwartz et al. zwei konstitutionelle Gruppen unterschieden haben:

I. Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj.

Mädchen bzw. junge Frauen vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,55$

II. Jungen bzw. junge Männer vom 13. bis 21. Lj.:  $k = 0,7$

Die Formel beruht auf der Proportionalität der Kreatinin-Exkretion zur Muskelmasse. Diese wiederum ist direkt proportional zur Größe und in gewissem Maß auch zur Körperkonstitution.

Die Konstante k drückt den Proportionalitätsfaktor zwischen Körperlänge und Muskelmasse aus.

Damals ermittelte die Arbeitsgruppe einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,905$  zwischen der CCr<sub>Schw</sub> und der Inulin-Clearance (Schwartz GJ et al. 1976).

Zur selben Zeit wurde die Arbeit von Counahan et al. publiziert, die nach gleicher Idee eine ähnliche Formel mit anderem Faktor „k“ mit guten Korrelationen ermittelt hatten (Counahan R et al. 1976). Ebenfalls im Jahr 1976 wurde eine GFR-Formelberechnung für Erwachsene durch Cockcroft et al. veröffentlicht (Cockcroft DW et al. 1976). Durch diese Berechnung konnte an 249 Patienten, mit einem Alter zwischen 18 und 92 Jahren, eine Korrelation zur CCr<sub>24-h</sub> von  $r = 0,83$  ermittelt werden.

Die beiden letzten Autoren verglichen die Formelberechnung jedoch ausschließlich mit der CCr<sub>24-h</sub>, und nicht mit der CIn.

1980 bestätigte Rudd et al. diese Ergebnisse und konnte mit den von Schwartz vorgeschlagenen Faktoren zur Formelberechnung ebenfalls sehr gute Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,9$  ermitteln. Andere Formeln, die Rudd verglich, waren der Schwartz-Formel unterlegen (Rudd GD et al. 1980). Die Arbeitsgruppe von Schwartz erweiterte die Untersuchungen der Schwartz-Formel für untergewichtige Früh- und Neugeborene und konnte bei verändertem Faktor „k“ Korrelationen von  $r = 0,76$  gegenüber der CIn ermitteln (Brion LP et al. 1986). Die gleichzeitig durchgeführte CCr<sub>24-h</sub> zeigte jedoch ein geringfügig besseres Ergebnis, mit  $r = 0,8$ .

Springate et al. untersuchten die Sensitivitäten und Spezifitäten bezüglich der Erkennung einer eingeschränkten Nierenfunktion (Springate JE et al. 1992). Es zeigte

sich an 87 Patienten im Alter zwischen 2 und 20 Jahren, das die Schwartz-Formel mit einer Sensitivität von 95% und einer Spezifität von 93% eine eingeschränkte Nierenfunktion nachweisen konnte. Weitere Studien wiesen ähnliche Ergebnisse vor (Haenggi MH et al. 1999; Morris MC et al. 1982).

Würden diese Studien jedoch einer Bland&Altman-Analyse unterzogen, so würden sich trotz guter Korrelationskoeffizienten große, klinisch relevante Abweichungen von der Referenzmethode zeigen.

Zum Beispiel zeigt Schwartz et al. in der o. g. Arbeit einen CIn-Wert von ca. 110 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und einen dazugehörigen formelberechneten Wert von ca. 170 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dies entspricht einer Abweichung von 54%, trotz ausgezeichneter Korrelation ( $r = 0,905$ ) und einer Regressionsgeraden, die der „line of identity“ entspricht (s. Abb. 49).

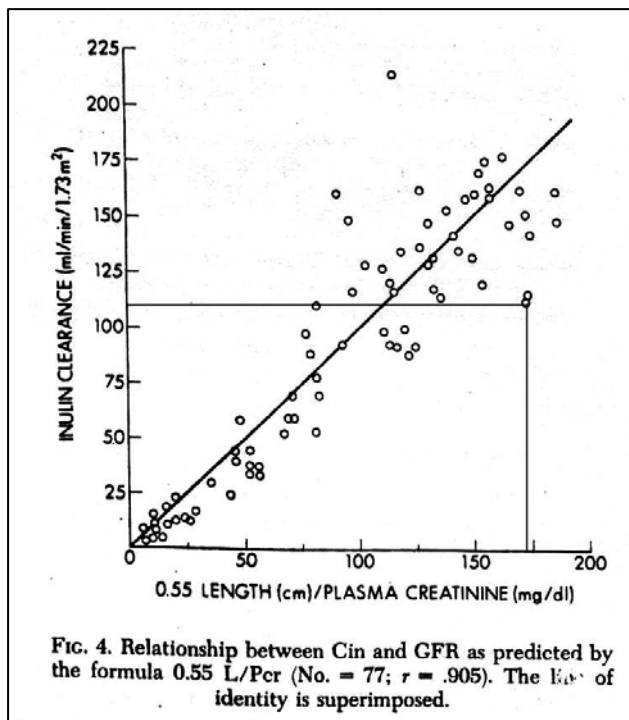


Abb. 49: Korrelation zwischen CIn und CCr<sub>Schw</sub> nach Schwartz et al. 1976

Die in der vorliegenden Studie ermittelten Daten sind mit denen der Literatur vergleichbar. Wie bereits anfangs erwähnt, konnte für die CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) die beste Übereinstimmung mit der CIn nachgewiesen werden. Die zweifache Standardabweichung (2SD) betrug hier  $\pm 32$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Dabei überschätzte diese Methode die Referenzmethode (CIn) um durchschnittlich 11 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einem 95%-Konfidenzintervall von +5 bis +17 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Die  $CCr_{Schw}$  (Ektachem) ergab hingegen eine etwas breitere Streuung mit einer 2SD von  $\pm 38$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> bei einer noch größeren Überschätzung von durchschnittlich 23 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einem Konfidenzintervall von +16 bis +31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Die schwächste  $CCr_{Schw}$  wurde durch den Creatinin-plus-Test ermittelt. Dort betrug die 2SD  $\pm 46$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einer deutlichen Überschätzung von 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und einem Konfidenzintervall von +21 bis +39 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Ebenso wie die besten Ergebnisse der Bland&Altman-Plots zeigte sich die höchste Korrelation für die  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) mit  $r = 0,86$ . Auch die  $CCr_{Schw}$  nach Ektachem und Creatinin plus ergaben gute Korrelationen von  $r = 0,84$ .

Die Korrelationen für die  $CCr_{24-h}$  betrugen dagegen zwischen 0,85 und 0,77 und für die  $CCr_{KZM}$  zwischen 0,83 und 0,80.

Eine Verbesserung der Formelberechnung kann durch die von Haenggi MH et al. (1999) und von Alinei P et al. (1985) vorgeschlagene Methode der Faktorkorrektur von „k“ erreicht werden. Im Gegensatz zu Schwartz et al. ermittelten die o. g. Autoren den Faktor „k“ durch die lineare Regression des Quotienten Körperlänge durch Serum-Kreatinin ( $H/P_{Cr}$ ) gegenüber  $CIn$ , und nicht gegenüber  $CCr_{24-h}$ . Grundsätzlich sollte jedes nephrologische Zentrum seine eigenen spezifischen k-Werte ermitteln, da die Faktoren v. a. der klinikspezifischen Kreatinin-Bestimmungsmethode unterliegen (s. Kapitel 5.4). In der vorliegenden Studie ergaben sich entsprechend der Überschätzungen der  $CIn$  durch die verschiedenen  $CCr_{Schw}$  nach Neuermittlung des Faktors „k“ niedrigere Werte. Abhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode zeigte die Regressionsanalyse für die Jaffé-Analyse  $k = 0,48$  für Gruppe I nach Schwartz. Der von Schwartz ermittelte Wert betrug  $k = 0,55$ . Noch niedrigere Werte wurden für die Ektachem- und Creatinin-plus-Methode berechnet. Dort ergab die lineare Regression einen k-Wert von 0,42 bzw. 0,38.

Für Gruppe II veröffentlichte Schwartz einen Wert von  $k = 0,7$ . In der vorliegenden Studie wurden für Jaffé, Ektachem und Creatinin plus k-Werte von 0,52, 0,48 und 0,47 ermittelt. Auf diese Weise kann die mittlere Abweichung von der  $CIn$  ausgeglichen und eine leichte Verbesserung der Streuung erreicht werden.

Die Validierung dieser Werte sollte im Anschluss an diese Studie prospektiv erfolgen.

### 5.5.2 24-h-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>24-h</sub>)

Als allgemeine Lehrmeinung gilt die 24-h-Kreatinin-Clearance als beste Methode zur GFR-Bestimmung im klinischen Alltag. Die vorliegende Studie zeigt in Bezug auf Kinder und Jugendliche Schwachpunkte dieser Methode auf, die zu einer kritischen Interpretation der Ergebnisse der 24-h-Kreatinin-Clearance führen müssen.

In einigen Studien konnte zwar im Vergleich mit der Schwartz-Formel eine bessere Korrelation gegenüber der CIn nachgewiesen werden, jedoch waren die Streuungen um die tatsächlichen GFR-Werte nur geringfügig besser.

Arant et al. konnten in einer 1972 veröffentlichten Studie eine sehr gute Korrelation zwischen der CCr<sub>24-h</sub> und der CIn mit  $r = 0,94$  und einer Regressionsgeraden der Steigung 1 zeigen (Arant BS, Jr. et al. 1972). Trotzdem wichen einige durch die CCr<sub>24-h</sub> ermittelten Werte deutlich von der CIn ab. Zum Beispiel wurde für eine GFR von 72 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ein Wert von 118 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> vorhergesagt. Hier zeigt sich erneut die inadäquate Verwendung von Korrelationen und Regressionen.

Hellerstein et al. untersuchten 39 Kinder und verglichen die CCr<sub>24-h</sub> sowie die CCr<sub>Schw</sub> mit der CIn (Hellerstein S et al. 1992). Die Korrelationskoeffizienten dieser Studie zeigte für die CCr<sub>24-h</sub>  $r = 0,94$  und für die CCr<sub>Schw</sub>  $r = 0,90$ .

Außerdem untersuchte Hellerstein et al. den Einfluss von Cimetidin auf die 24-h-Kreatinin-Clearance an 53 pädiatrischen Patienten (Hellerstein S et al. 1998). Die Patienten sammelten den 24-h-Urin zu Hause, nach schriftlicher Aufklärung über die richtige Durchführung. Zusätzlich sollten sich alle Patienten 24 Stunden vor Beginn der Untersuchung fleisch- und fischfrei ernähren. Gleichzeitig wurden eine Schwartz-Clearance sowie eine Kurz-Zeit-Methode evaluiert. Wie in der vorliegenden Studie wurden die Ergebnisse der CIn als Referenzmethode gegenübergestellt. Als statistische Methode wurden Bland&Altman-Plots verwendet.

Die beste Übereinstimmung zeigte die Kurz-Zeit-Methode, auf die in Kapitel 5.5.3 noch näher eingegangen wird.

Die zweitbeste Methode war die CCr<sub>Schw</sub> mit einer 2SD von 31 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und einer Abweichung von -1 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Konfidenzintervall [-3, 6]).

Die breiteste Streuung zeigte die CCr<sub>24-h</sub> mit einer 2SD von 36 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> bei einer Unterschätzung von -7 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Konfidenzintervall [-9, 15])

Hellerstein et al. zeigte gleichzeitig die Probleme der Regressionsanalysen und Korrelationen auf. Für die  $CCr_{Schw}$  wurde ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,99$  mit einer Regressionsgeraden der Steigung 1 ermittelt. Trotzdem betrug die  $2SD \pm 31 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Trotz hervorragender Regression ist ein Übersehen einer eingeschränkten Nierenfunktion sehr wahrscheinlich.

Die Ergebnisse der  $CCr_{Schw}$  und  $CCr_{24-h}$  sind vergleichbar mit der vorliegenden Studie, wenngleich die 24-h-Kreatinin-Clearance bei Hellerstein et al. unter Blockade der Kreatinin-Sekretion durch Cimetidin durchgeführt wurden. Ohne Cimetidin würden noch schlechtere Ergebnisse erwartet werden.

Eine Arbeit von Skinner R et al. (1994) berücksichtigt ebenfalls die Bland&Altman-Plots. Die Arbeitsgruppe verglich die Schwartz-Formel, die Counahan-Formel sowie die modifizierte Counahan-Formel nach Morris mit der Cr-EDTA-Clearance. Die Studie wurde an 39 onkologischen pädiatrischen Patienten durchgeführt, die seit mindestens sechs Monaten keine nephrotoxischen Medikamente eingenommen hatten.

Alle drei Methoden zeigten eine ausgesprochen große Streuung um die mittleren Abweichungen. Die  $2SD$  betrugen zwischen 35% und 48% des Mittelwertes.

Erwähnenswert ist, dass in den beiden vorgestellten Studien von Hellerstein et al. und Skinner et al. unterschiedliche Referenzmethoden verwendet wurden, nämlich die Inulin-Clearance und die Cr-EDTA-Clearance. Gibb et al. hatte beide Methoden durch Bland&Altman-Plots miteinander verglichen (Gibb DM et al. 1989). An 11 diabetischen Kindern und 12 gesunden jungen Erwachsenen wurden die Cr-EDTA-Clearance (Cr-EDTA) und die CIn untersucht. Allen Patienten gemeinsam war die Unterschätzung der CIn durch die Cr-EDTA um etwa  $7,5 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Zusätzlich zeigte sich jedoch eine beträchtliche Streuung um den Mittelwert von  $\pm 22 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  gemessen an der  $2SD$ .

Daran wird deutlich, dass nicht einmal die Referenzmethoden zuverlässige Werte liefern, und dass die Evaluation von neuen, einfacheren Methoden nie genaue Ergebnisse erbringen können wird.

Die vorliegende Studie bestätige die in der Literatur gefundenen Ergebnisse.

Die Analyse der Bland&Altman-Plots zeigte für die  $CCr_{24-h}$  (Jaffé) ebenfalls eine beträchtliche Abweichung von der Referenzmethode. Die 2SD erreichte ein Intervall von  $\pm 36$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> um den Zielwert.

Dabei wurde eine mittlere Unterschätzung von -11 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> ermittelt. Pathophysiologisch hätte es zu einer Überschätzung kommen müssen. Ein theoretischer Erklärungsansatz dafür wird weiter unten erbracht. Das 95%-Konfidenzintervall betrug  $\pm 14$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Das heißt in zukünftigen Untersuchungen würde die zu erwartende mittlere Abweichung zwischen +3 und -25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> liegen. Angesichts der beträchtlichen Variabilität der intraindividuellen GFR-Schwankungen liegen diese Grenzen im Rahmen der klinischen Relevanz.

Es ist offensichtlich, dass solche Abweichungen kaum eine sichere Aussage über die Nierenfunktion zulassen. Insbesondere im kritischen Bereich um 80 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> als „cut-off“ für eine eingeschränkte Nierenfunktion, ist mit einer hohen Anzahl von falsch-positiven oder falsch-negativen zu rechnen. Eine therapeutische Konsequenz sollte demnach nicht allein aus einer solchen Untersuchung gezogen werden.

Für die  $CCr_{24-h}$  (Ektachem) und  $CCr_{24-h}$  (Creatinin plus) bestanden zwar Unterschiede der Absolutwerte, die Aussage über die klinische Relevanz ist jedoch vergleichbar mit der  $CCr_{24-h}$  (Jaffé). Die  $CCr_{24-h}$  (Ektachem) zeigte mit -1 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> die geringste mittlere Abweichung von der Referenzmethode. Das Konfidenzintervall betrug  $\pm 7$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, bei ähnlich breiter Streuung der Gesamtwerte ( $\pm 38$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) verglichen mit der  $CCr_{24-h}$  (Jaffé). Damit war die  $CCr_{24-h}$  (Ektachem) insgesamt genauso schwach in der Beurteilung der tatsächlichen GFR.

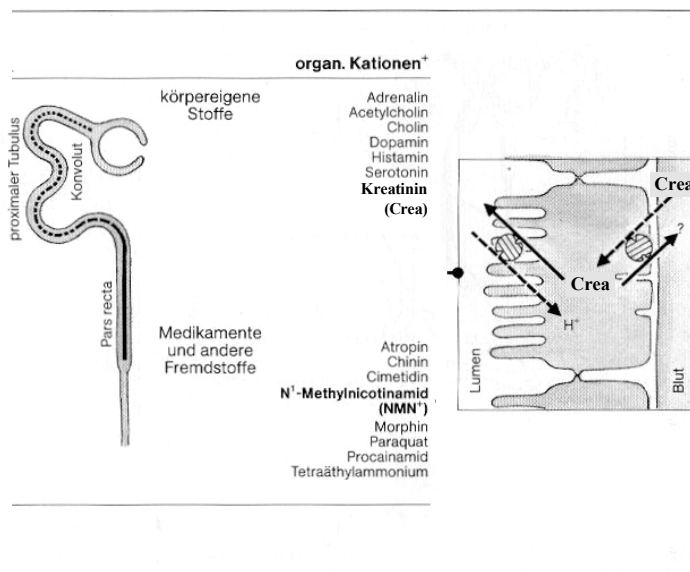
Trotz der hochwertigsten Kreatinin-Analytik war die  $CCr_{24-h}$  (Creatinin plus) noch ungeeigneter, die GFR vorauszusagen. Die Streuung betrug hier  $\pm 46$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Für alle drei Methoden existiert demnach ein hohes Risiko der Fehleinschätzung der GFR. Eine beginnende Nierenfunktionseinschränkung ist nicht zuverlässig nachzuweisen.

Wie kommt es jedoch zu der o. g. Unterschätzung der  $CCr_{24-h}$  (Jaffé)? Zumal dies im Widerspruch zur Pathophysiologie des Kreatinins steht? Eher wäre eine Überschätzung der Inulin-Clearance zu erwarten gewesen.

Auch in der bereits erwähnten Studie von Hellerstein et. al. unterschätzte die  $CCr_{24-h}$  die CIn durchschnittlich um 7 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Hellerstein S et al. 1998).

Ein Erklärungsansatz ist die Abweichung der damals von Rehberg postulierten idealen Markereigenschaften für Kreatinin (Rehberg PB 1929b). Entgegen seiner Annahme wird Kreatinin zwar glomerulär frei filtriert, tubulär nicht metabolisiert und nicht rückresorbiert, jedoch mit sinkender GFR zunehmend sezerniert (Berglund F et al. 1975; Burgess E et al. 1982; Dubb JW et al. 1978; Shannon JA 1935; Shemesh O et al. 1985). Dies erfolgt gemäß der Abb. 50 über einen luminalen aktiven Kotransporter, der organische Kationen gegen  $H^+$  austauscht. Der Einstrom für das Kathion in die Zelle, z.B. Kreatinin, erfolgt passiv an der basolateralen Membran.



**Abb. 50: Proximal-tubuläre Sekretion von organischen Säuren und Basen (nach Klink und Silbernagel, 1994; modifiziert)**

Damit kommt es gemäß der bekannten Formel (8) bei Erhöhung der Kreatinin-Ausscheidung im Urin ( $U_{Cr}$ ) zu einer falsch-hohen GFR-Bestimmung:

$$\frac{V_U \times U_{Cr} \times 1,73 \text{ m}^2}{t \times P_{Cr} \times \text{KOF} [\text{m}^2]} = \text{GFR} [\text{ml/min/1,73 m}^2] \quad (8)$$

Andererseits können nicht nur körpereigene Stoffe wie Kreatinin, Adrenalin und Dopamin, sondern auch körperfremde Stoffe wie z. B. Cimetidin über diesen Transporter sezerniert werden.

In verschiedenen Studien wurde versucht, diese Eigenschaften auszunutzen. Durch die Gabe von Cimetidin kann die Kreatinin-Sekretion blockiert werden, um somit die GFR-Bestimmung im niedrigen Bereich zu verbessern (Hellerstein S et al. 1998; Roubenoff R et al. 1990; Van Acker BA et al. 1992). In einem im Lancet veröffentlichten Brief an Van Acker et. al schrieb Agarwal R (1993, dass die Cimetidin-Applikation nicht



unproblematisch hinsichtlich immunsupprimierter Patienten sei. Cimetidin besitzt komplexe immunmodulierende Eigenschaften, die sowohl die Suppression verstärken, als auch vermindern können (siehe Einleitung 1.3.2.1) (Gifford RR et al. 1988). Deshalb wurde in der vorliegenden Studie auf ein Cimetidin-Protokoll verzichtet.

Ein weiteres Problem der Kreatinin-Clearance ist die aktive enterale Sekretion von Kreatinin, die in Analogie zur tubulären Sekretion bei erhöhtem Serum-Spiegel zunimmt. (Mitch WE et al. 1980). Dadurch kommt es zu einer Erniedrigung des Serum-Kreatinins ( $P_{Cr}$ ), was gemäß der o. g. Formel (8) die GFR ebenfalls falsch-hoch bewertet.

Wie erklärt sich nun die Unterschätzung der CIn durch die  $CCr_{24-h}$  (Jaffé)?

Die laborchemischen Einflüsse, die bereits in Kapitel 5.4 diskutiert wurden, haben eine größere Auswirkung auf die Untersuchungsmethode als die physiologischen Prozesse im Körper. Der Zusammenhang stellt sich wie folgt dar:

Nach der bekannten Formel (8) fließen in die Berechnung zwei Kreatinin-Werte ein. Zum einen das Serum-Kreatinin ( $P_{Cr}$ ), zum anderen das Urin-Kreatinin ( $U_{Cr}$ ):

$$\frac{V_U \times U_{Cr} \times 1,73 \text{ m}^2}{t \times P_{Cr} \times \text{KOF} [\text{m}^2]} = \text{GFR} [\text{ml/min}/1,73 \text{ m}^2] \quad (8)$$

Aufgrund des beschriebenen Phänomens, dass Jaffé im Serum falsch-hohe, im Urin dagegen falsch-niedrige Werte bestimmt, addieren sich die Fehler in Richtung falsch-positiv. Dies erklärt sich bei näherer Betrachtung der o. g. Formel (8). Im Zähler steht das Urin-Kreatinin, erniedrigt also die berechnete GFR bei sinkenden Werten. Umgekehrt steht das Serum-Kreatinin im Nenner und erniedrigt das Ergebnis bei steigenden Werten.

Darin zeigt sich, wie wichtig die richtige Wahl der Kreatinin-Bestimmungsmethode ist.

### 5.5.3 Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{KZM}$ )

Die Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance ( $CCr_{KZM}$ ) konnte in einigen Studien bessere Korrelationen mit der CIn als die  $CCr_{24-h}$  nachweisen. Die Möglichkeiten für die Durchführung der Kurz-Zeit-Methoden sind dabei vielfältig.

In der bereits erwähnten Studie von Hellerstein et al. wurde an 53 pädiatrischen Probanden eine Kurz-Zeit-Methode über zwei Stunden durchgeführt. Dabei wurde

viermalig über 30 Minuten Urin gesammelt und aus der Gesamtmenge die Kreatinin-Clearance berechnet. Zusätzlich wurde eine  $CCr_{24-h}$  sowie eine Schwartz-Clearance berechnet. Alle Methoden wurden mit der Inulin-Clearance als Referenzmethode verglichen (Hellerstein S et al. 1998).

Die 2-h-Methode ergab die geringste Streuung (2SD) von ca.  $\pm 20$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einer durchschnittlichen Unterschätzung der CIn von -1,5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Das 95%-Konfidenzintervall um den Mittelwert betrug -1,1 bis +4,1 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Alinei et al. führten simultan zur CIn einen 3-h-Kreatinin-Clearance und eine Schwartz-Clearance durch. 66 Säuglinge wurden untersucht. Der Wert für die  $CCr_{KZM}$  berechnete sich aus dem Mittel von vier bis fünf Urinproben. Der Urin wurde jedoch durch Blasenkatheterisierung gewonnen. Für eine Routinediagnostik ist dieses Vorgehen ungeeignet. Die Korrelationen der  $CCr_{KZM}$  gegenüber der CIn ergab einen Korrelations-Koeffizienten von  $r = 0,77$ . Dabei wurde die CIn unter einer GFR von 100 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> überschätzt. In dieser Studie war jedoch die Korrelation zwischen der  $CCr_{Schw}$  und der CIn mit  $r = 0,82$  besser (Alinei P et al. 1985).

Hadj-Aissa et al. konnten an 500 pädiatrischen Patienten Vorteile einer  $CCr_{KZM}$  und der  $CCr_{Schw}$  gegenüber der  $CCr_{24-h}$  zeigen (Hadj-Aissa A et al. 1994). Die Kurz-Zeit-Methode wurde nüchtern über zwei bis drei Stunden nach einer einstündigen Hydratation durchgeführt. Für diese Methode zeigte sich die beste Korrelation mit  $r = 0,92$  gegenüber der  $CCr_{24-h}$  mit  $r = 0,74$ . Die  $CCr_{Schw}$  zeigte ebenfalls einen besseren Zusammenhang zur CIn als die  $CCr_{24-h}$  mit  $r = 0,82$ .

Waller et al. untersuchten die Unterschiede zwischen der  $CCr_{24-h}$ , einer 2-h-Kreatinin-Clearance und der Cockcroft-Formel zur Berechnung der GFR gegenüber der Tc-DTPA-Clearance an 171 erwachsenen Patienten (Waller DG et al. 1991). Die beste Korrelation ergab die Cockcroft-Formel mit  $r = 0,93$ , gefolgt von  $CCr_{24-h}$  mit  $r = 0,90$  und zuletzt der 2-h-Kreatinin-Clearance mit einem Korrelations-Koeffizienten von  $r = 0,82$ .

Die Kurz-Zeit-Clearance ( $CCr_{KZM}$ ) der vorliegenden Studie ergab für die Bestimmung durch Jaffé eine relativ geringe Streuung von  $\pm 34$  (2SD) mit einer durchschnittlichen Überschätzung der CIn um 6 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Konfidenzintervall [-1, +13]). Die

CCr<sub>KZM</sub> (Creatinin plus) zeigte mit einer 2SD von  $\pm 48$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> eine identisch breite Streuung zu den beiden anderen Methoden CCr<sub>24-h</sub> und CCr<sub>Schw</sub>.

Das schlechteste Ergebnis aller untersuchten Methoden zeigte die CCr<sub>KZM</sub> ermittelt mit Ektachem. Die 2SD betrug  $\pm 54$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einer Überschätzung von 25 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Konfidenzintervall [+14, +35])

Zusammengefasst bietet die CCr<sub>KZM</sub> keinen Vorteil gegenüber der gewohnten CCr<sub>24-h</sub> oder CCr<sub>Schw</sub>. Die Daten zeigen teilweise noch größere Abweichungen von der Referenzmethode als die CCr<sub>Schw</sub> oder die CCr<sub>24-h</sub>, so dass in Anbetracht der Aufwendigkeit der Untersuchung diese Methode nicht geeignet ist.

## 5.6 Diskussion der Tag-zu-Tag-Untersuchungen

Bei sechs gesunden Erwachsenen wurde an zwei aufeinander folgenden Tagen jeweils das komplette Untersuchungsprotokoll durchgeführt. Damit sollte die Wiederholbarkeit und Variabilität der verschiedenen Methoden geprüft werden. Die pädiatrischen Patienten wurden dazu nicht herangezogen, da die zweimalige Durchführung des gesamten Studienprotokolls eine zu große Belastung dargestellt hätte.

In der gesamten bisher veröffentlichten Literatur sind aus den o. g. Gründen keine Tag-zu-Tag-Untersuchungen für aufwendigere Clearance-Methoden, wie z. B. die Single-Injection-Inulin-Clearance, an Kindern und Jugendlichen beschrieben worden. Auch für Erwachsenen liegen nur wenige Daten vor. Hinzu kommt die Schwierigkeit der Beurteilung solcher Daten, da eine Trennung zwischen physiologisch-intraindividuellen Veränderungen der GFR und methodischen sowie laborchemischen Veränderungen kaum möglich ist.

Wie bereits mehrfach erwähnt, unterliegt die tatsächliche GFR starken Einflüssen durch Lebensalter, Nahrungsaufnahme, körperlicher Aktivität, Orthostase, Medikamenteneinnahme, Hydrierung u. a.. Diese können innerhalb weniger Stunden zu kurzzeitigen Schwankungen der GFR bis zu 50% führen (Guignard JP et al. 1999; Mayersohn M et al. 1983; Rudd PT et al. 1983).

Auch unabhängig von physiologischen Prozessen sind bei den Ergebnissen der GFR-Bestimmung intraindividuelle Varianzen zu erwarten, da sie von laborchemischen Methoden abhängig sind. Diese unterliegen zwangsweise Schwankungen, die sich bei der Untersuchung mehrerer Parameter addieren können. Fehlerhafte Urinsammlung und -lagerung können ebenfalls zu signifikanten Ergebnisverfälschungen beitragen.

Wie in der vorliegenden Studie durchgeführt, können physiologische Schwankungen nur durch Standardisierung des Untersuchungsprotokolls unter Kenntnis der Einflussgrößen minimiert werden. Eine sichere intraindividuelle Stabilität der GFR ist dabei nicht zu erreichen. So zeigte die CIn einen durchschnittlichen Abfall der GFR vom ersten zum zweiten Tag um durchschnittlich 6 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit einer 2SD von 12 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Eine mögliche Erklärung für den Abfall der GFR ist die überdurchschnittlich hohe Flüssigkeitszufuhr durch Vorhydrierung am ersten Versuchstag, die zu einem kurzen GFR-Anstieg geführt hatte. Durch Adaptation an die erhöhte Flüssigkeitszufuhr kam es am Folgetag nicht zu dieser Veränderung.

Florijn KW et al. (1994) zeigten an 13 Probanden in einer dreimaligen Wiederholung der CIn einen durchschnittlichen Variations-Koeffizienten von 7,1%. In der vorliegenden Studie betrug der VK lediglich 5%. Siebenhofer A et al. (2001) untersuchten die Varianz der CIn an zwei aufeinander folgenden Tagen bei 12 erwachsenen Diabetes-Patienten, mit ähnlich guten Ergebnissen.

Die CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) zeigte von den kreatininabhängigen Methoden die geringste Varianz mit einer 2SD von 10 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und lag somit noch unter der CIn.

Die CCr<sub>Schw</sub> bestimmt mit Ektachem oder Creatinin plus zeigte hingegen etwas größere Abweichungen mit einer 2SD von 16 bzw. 22 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Die Ursache der schwächeren Ergebnisse mit Ektachem gegenüber Jaffé konnten nicht geklärt werden, zumal die in den laborinternen Qualitätskontrollen bestimmten VKs niedriger lagen als mit Jaffé.

Den größeren Abweichungen von CCr<sub>Schw</sub> (Crea plus) könnte die geringe Erfahrung des klinischen Labors mit der Methode zugrunde liegen, da der Test nur für die vorliegende Studie angewandt wurde.

Die CCr<sub>KZM</sub> und die CCr<sub>24-h</sub> zeigten identische Abweichungen, abhängig von der Kreatinin-Bestimmungsmethode. Die geringsten Abweichungen mit einer 2SD von 12 bzw. 14 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> konnten mit Ektachem ermittelt werden. Entgegen der CCr<sub>Schw</sub>, wurden mit Jaffé die größten Abweichungen von Tag-zu-Tag, mit einer 2SD von jeweils 24 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, bestimmt. Als Hauptursache ist hier die bekannte störanfällige Kreatinin-Bestimmung im Urin zu nennen (s. Kap. 5.4.). Ektachem hingegen bestimmt Kreatinin im Urin deutlich störunanfälliger.

Die Reproduzierbarkeit von Kurz-Zeit-Methoden und der CCr<sub>24-h</sub> wurden bislang nur von Herget-Rosenthal S et al. (1999) untersucht. An 30 Probanden konnten sie für eine

2×2-h-Urinsammlung geringere Abweichungen als für die  $\text{CCr}_{24\text{-h}}$  nachweisen. Allerdings verglich die Arbeitsgruppe diese beiden Methoden nicht mit einer zuverlässigen Referenzmethode wie z. B. die CIn.

Es zeigt sich eindeutig, dass die Reproduzierbarkeit von GFR-Bestimmungsmethoden bislang nur unzureichend untersucht wurde, obwohl dies den wichtigsten Hinweis für die Zuverlässigkeit einer Methode darstellt.

## **5.7 Diskussion der Ergebnisse der Nierenfunktionsprüfung durch Cystatin C**

Die Ergebnisse der Cystatin-C-Untersuchung müssen vorsichtig beurteilt werden. Als einziger Parameter wurde Cystatin C retrospektiv in das Studienprotokoll mit aufgenommen. Sämtliche Blutproben wurden innerhalb von zwei Stunden abzentrifugiert und waren nur einmalig bei kontrollierten  $-28^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Die Seren lagerten teilweise bis zu 12 Monaten.

Finney et al. evaluierten 1997 das in der vorliegenden Studie verwendete Cystatin-C-Assay von Behring-Diagnostika. Eine Untersuchungsgröße dabei war die Stabilität der Proben. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen frischem Serum und Serum, das zwei Tage bei Zimmertemperatur gelagert wurde. Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ergab Serum, das eine Woche bei  $+4^{\circ}\text{C}$  oder eine Woche bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert wurde.

Signifikante Erniedrigungen  $< 0,14\text{ mg/l}$  der Cystatin C-Konzentrationen wurden bei Seren gemessen, die zwei Monate bei  $-20^{\circ}\text{C}$  lagerten; Erniedrigungen  $< 0,16\text{ mg/l}$  wurden bei Seren ermittelt, die über drei Monate zehnmal eingefroren und wieder aufgetaut wurden. Dabei zeigte sich kein zeitlicher Trend des Cystatin-C-Abfalls (Finney H et al. 1997).

Zu Untersuchungen über die Haltbarkeit von Proben über 12 Monate bzw. bei  $-28^{\circ}\text{C}$  sind keine Daten veröffentlicht. Abweichungen der tatsächlichen Cystatin C-Werte der Studienpatienten sind allerdings in Anbetracht der vorliegenden Studie möglich, größere Abweichungen jedoch unwahrscheinlich.

Die GFR-Bestimmung durch Cystatin C war in der vorliegenden Studie im Gegensatz zu den kreatininabhängigen Methoden nicht zufrieden stellend. Insbesondere die Kehrwert-Analyse ( $1/\text{Cystatin C}$  gegen die Single-Injection-Inulin-Clearance (CIn)),

aber auch die von Filler G et al. (2003) empfohlene GFR-Formelberechnung für Cystatin C zeigten Daten, die für die klinische Praxis eindeutig unzureichend sind.

Die Korrelation von  $1/\text{Cystatin C}$  gegen  $\text{CIn}$  ergab einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,75$ . Dies entspricht in etwa der  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Ektachem), die die schwächste Korrelation der kreatininabhängigen Methoden in der vorliegenden Studie zeigte.

Verschiedene Studien versuchten seit 1992, die diagnostische Aussagekraft von Cystatin C zu evaluieren und mit Kreatinin zu vergleichen. Hier seien nur neuere Arbeiten zitiert, die unterschiedliche Ergebnisse erbrachten:

Ylinen EA et al. (1999) untersuchten 59 Kinder und verglichen die Korrelationen von  $1/\text{Cystatin C}$  mit der  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ -Clearance und  $1/\text{Kreatinin}$  mit der  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ -Clearance. Es zeigten sich für  $1/\text{Cystatin C}$  eine bessere Korrelation mit  $r = 0,89$  gegenüber  $r = 0,80$  für  $1/\text{Kreatinin}$ .

Helin I et al. (1998) konnten in einer Studie mit 69 Kindern ähnliche Ergebnisse erzielen. Als Referenzmethode galt wieder die  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ -Clearance, die mit  $1/\text{Cystatin C}$  und  $1/\text{Kreatinin}$  als Korrelationsanalyse verglichen wurde. Die Korrelation für  $1/\text{Cystatin C}$  ergab  $r = 0,83$  für  $1/\text{Kreatinin}$   $r = 0,67$ .

Auch Bökenkamp A et al. (1998) konnten ähnliche Ergebnisse ermitteln. Die Arbeitsgruppe untersuchte 184 Kinder und verwendete als Referenzmethode die Inulin-Clearance. Die Korrelation für  $1/\text{Cystatin C}$  betrug  $r = 0,88$  gegenüber  $1/\text{Kreatinin}$  mit  $r = 0,72$ .

Stickle D et al. (1998) und Filler G et al. (1999) beschreiben bei ähnlichem Studiendesign eine Gleichwertigkeit zwischen  $1/\text{Cystatin C}$  und  $1/\text{Kreatinin}$ . Wobei Filler et al. als einzige Arbeitsgruppe zusätzlich die Schwartz-Formel in Vergleich mit  $1/\text{Cystatin C}$  setzten. Dabei zeigte sich, dass die Schwartz-Formel überlegen ist. Der Korrelationskoeffizient für  $1/\text{Cystatin C}$  betrug  $r = 0,64$  gegenüber  $r = 0,73$  für die Schwartz-Formel.

Genau hier zeigt sich das Problem aller beschriebenen Studien: Es steht außer Frage, dass die Formelberechnungen, nach Schwartz für Kinder oder nach Cockcroft für Erwachsene, präzisere Ergebnisse liefern, als das alleinige Serum-Kreatinin. Außerdem lässt sich nur so eine tatsächliche GFR ermitteln. Es ist sehr wahrscheinlich, dass bei den o. g. Studienprotokollen die Schwartz-Clearance dem Cystatin C stets überlegen gewesen wäre.

Lediglich zwei Arbeitsgruppen versuchten Cystatin C direkt mit der GFR in Bezug zu setzen. Bökenkamp A et al. (1998) veröffentlichten für das DAKO-Test-Kit folgende Formel, die durch lineare Regression geometrisch ermittelt wurde:

$$\text{GFR}_{\text{CysC}} [\text{ml/min/1,73 m}^2] = \frac{162}{\text{CysC}} - 30 \quad (9)$$

Die Korrelation zwischen der Inulin-Clearance und der  $\text{GFR}_{\text{CysC}}$  betrug  $r = 0,88$ , gegenüber  $r = 0,85$  für die GFR ermittelt durch die Schwartz-Formel ( $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ ), bei jeweils guten Regressionsanalysen ( $\text{GFR}_{\text{CysC}} = 1,001 \times \text{CIn}^{-2}$ ;  $\text{CCr}_{\text{Schw}} = 1,08 \times \text{CIn} + 1,08$ )

Filler G et al. veröffentlichten erst 2003 eine Formel zur GFR-Berechnung unter Verwendung des DADE-Behring-Test-Kits. Die Formel lautet:

$$\log(\text{GFR}) = 1,962 + [1,123 \times \log(1/\text{Cystatin C})] \quad (10)$$

An 536 pädiatrischen Patienten im Alter zwischen 1 und 18 Jahren wurde die Formel durch Regressionsanalyse ermittelt. Als Referenzmethode wurde die  $^{99\text{m}}\text{TC}$ -DTPA-Single-Injection-Methode verwendet. Der Korrelations-Koeffizient zwischen beiden Methoden betrug  $r = 0,81$  mit einer Regressionsgeraden von  $y = 0,87x + 10$ .

Die Bland&Altman-Analyse zeigte eine gute Übereinstimmung des Mittelwertes, mit einer Abweichung von nur 0,3%. Die  $1,96 \times \text{SD}$  betrug jedoch 47,6%.

In der vorliegenden Studie wurden ähnliche Ergebnisse ermittelt. Die Korrelation zwischen der Single-Injection-Inulin-Clearance und  $\text{GFR}_{\text{CysC}}$  ergab mit  $r = 0,8$  annähernd das gleiche Ergebnis, wie in der zuvor genannten Studie. Die Regressionsgerade  $y = 1,36x + 10$  zeigte jedoch einen deutlich steileren Anstieg mit dem gleichen y-Achsenabschnitt. Die Daten der Bland&Altman-Plots sind vergleichbar mit den Daten der schlechtesten kreatininabhängigen Methode, der  $\text{CCr}_{\text{KZM}}$  (Ektachem).

Zur Einschätzung der GFR scheint das Cystatin C demnach wenig geeignet. Außerdem ist die von Filler et al. ermittelte Formel aufgrund der doppelten Logarithmierung nur umständlich mit einem wissenschaftlichen Taschenrechner auszurechnen. Die erwähnten Studien, die lediglich Kehrwerte von Cystatin C und Kreatinin untersuchten, könnten allerdings für die reine Screening-Untersuchung, wie sie routinemäßig an nicht-nephrologischen Zentren durchgeführt wird, von Bedeutung sein.

Die bereits zitierten Studien von Helin et al. (1998) und Ylinen et al. (1999) konnten für Cystatin C anhand von Receiver-operating-characteristic (ROC)-Berechnungen eine

bessere Unterscheidungsfähigkeit zwischen nierengesund und nierenkrank ermitteln, als für Kreatinin.

Filler et al (1999) und Stickle et al. (1998) konnten an insgesamt 441 Kindern eine Gleichwertigkeit beider Methoden nachweisen.

Eine interessante Studie veröffentlichten Keevil BG et al. (1998). Sie untersuchten *interindividuelle* und *intraindividuelle* Unterschiede zwischen Cystatin C und Kreatinin. Hier zeigten sich für Serum-Kreatinin eine *interindividuelle* Varianz von bis zu 93% und eine *intraindividuelle* Varianz von nur 7%. Umgekehrt waren die Ergebnisse für Cystatin C. Die *interindividuelle* Varianz betrug 25%, die *intraindividuelle* Varianz 75%.

Für die Praxis bedeutet dies, dass Cystatin C zwar ein guter Screening-Parameter sein könnte, was die vorherigen Studien teilweise auch nachweisen konnten, allerdings ist Cystatin C für Verlaufskontrollen beim einzelnen Patienten ungeeignet.

Kreatinin dagegen hat wegen der hohen *interindividuellen* Varianz wenig geeignete Screening-Eigenschaften, was sich im so genannten „kreatininblinden“ Bereich verdeutlicht. Laut Schwartz et al. liegt der Referenzbereich für sieben- bis dreizehn-jährige Kinder zwischen 0,3 und 1,0 mg/dl.

Beispielsweise könnte ein sieben jähriges Kind, das vor einem Jahr nierengesund war und damals ein niemals bestimmtes Serum-Kreatinin von 0,3 mg/dl gehabt hat, jetzt ein Serum-Kreatinin von 0,9 mg/dl haben ohne als niereninsuffizient aufzufallen. Dabei hat sich im Verlauf die GFR auf ein Drittel der Ausgangsleistung reduziert. Aufgrund der geringen *intraindividuellen* Varianz ist dagegen die Verlaufskontrolle beim bekannten nierenkranken Kind sehr geeignet.

Ein Vorschlag für die klinische Praxis, um die diagnostische Sensitivität zur Erkennung einer eingeschränkten GFR zu erhöhen, wäre die kombinierte Durchführung einer Cystatin-C-Bestimmung sowie der Ermittlung der Schwartz-Clearance.

## **5.8 Beurteilung der Durchführbarkeit**

In den folgenden Kapiteln wird die Durchführbarkeit der einzelnen Untersuchungsmethoden im klinischen Alltag erläutert. Beschrieben wird der Umgang mit dem Patienten, wie auch seine Zufriedenheit. Zusätzlich werden Probleme der Proben-



gewinnung sowie Probleme des Handlings der Proben bis zur weiteren Verarbeitung im Labor dargestellt.

### **5.8.1 Beurteilung der Durchführbarkeit der Single-Injection-Inulin-Clearance (C<sub>IN</sub>)**

Die Single-Injection-Inulin-Clearance bedeutet für den Patienten eine starke Belastung, für Pflegepersonal und betreuende Ärzte einen großen Zeitaufwand.

Die Untersuchung muss zumindest tagesstationär erfolgen, besser allerdings unter stationären Bedingungen. Vor allem für die kleinen Patienten ist der Klinikaufenthalt über Nacht ein großer Einschnitt in den gewohnten Alltag. Da die Kinder oft kein Krankheitsgefühl haben, ist die vierstündige Bettruhe während der Untersuchung nur schwer einzuhalten.

Die Untersuchung erfordert zwei Venenpunktionen sowie 12 Blutentnahmen über eine Venenverweilkanüle. Bei den meist schlechten Venen der nephrologischen Patienten ist auch das Aspirieren des Blutes oft nur mit Manipulationen der Kanüle möglich, was den Patienten ebenfalls belastet. In einzelnen Fällen musste die Verweilkanüle sogar ein zweites Mal gelegt werden.

Das gewonnene EDTA-Blut sollte innerhalb von zwei Stunden abzentrifugiert werden. Falls die Labormitarbeiter diese Arbeit nicht leisten können, muss der betreuende Arzt dies während der weiterlaufenden Untersuchung tun, so dass die Zeiten der Blutentnahme schwer einzuhalten sind.

Die anschließende laborchemische Analyse des Plasmas ist teuer, zeitaufwendig und benötigt ein gut ausgestattetes Labor sowie einen Computerplatz mit installierter Spezialsoftware. Im Durchschnitt dauert die laborchemische Untersuchung pro Patient etwa drei Stunden.

### **5.8.2 Beurteilung der Durchführbarkeit der 24-h-Kreatinin-Clearance (C<sub>Cr24-h</sub>)**

Die 24-h-Kreatinin-Clearance kann mit Einschränkung ambulant erfolgen. Die Untersuchung erfordert eine venöse Blutentnahme sowie einen 24-h-Sammelurin. Die Untersuchung ist für den Patienten, wenn sie ambulant erfolgt, wenig belastend. Belastet sind hier eher die Eltern, die sich mühsam um die Gewinnung des Sammelurins kümmern müssen. Selbst bei erfahrenen Eltern kommt es immer wieder vor, dass die erste Portion des Sammelurins nicht verworfen wird und es so zu falschen Ergebnissen

kommt. Bei Kindern, die ständig oder auch nur teilweise einen Windel benötigen, ist die Methode nicht durchführbar. Die Gewinnung des Urins durch geklebte Urinbeutel ist selten korrekt. Bei kleineren Kindern ist nicht sicher gewährleistet, dass die Urinportion bei gleichzeitigem Stuhlgang sicher aufgefangen werden kann.

Unter stationären Bedingungen mit erfahrener Pflegepersonal ist die korrekte Urinsammlung annähernd gesichert. Wobei auch hier besondere Umsichtigkeit durch Pfleger und Schwestern gefordert ist.

Grundproblem ist in erster Linie die Urin-Sammelmenge. Geht z.B. bei einer Gesamturinmenge von 1500 ml nur eine Urinportion von etwa 300 ml verloren, könnte die GFR um 20% zu niedrig berechnet werden.

### **5.8.3 Beurteilung der Durchführbarkeit der Kurz-Zeit-Methode (CCr<sub>KZM</sub>)**

Im Unterschied zur CCr<sub>24-h</sub> ist die CCr<sub>KZM</sub> für die Kinder mehr belastend. Zwei Venenpunktionen sind notwendig, falls nicht eine rückläufige Venenverweilkanüle angelegt ist.

Vor Beginn der Studie schien das zeitgenaue Wasserlassen das größte Problem bei dieser Methode zu sein. Erstaunlicherweise waren die Kinder ausnahmslos sehr kooperativ. Die Miktion erfolgte innerhalb von plus/minus 10 Minuten um die erwünschten 90 Minuten. Großer Vorteil bei dieser Methode ist die genaue Urinsammlung, sofern sie stationär oder tagesklinisch durchgeführt wird. Als Heimmethode ist sie aufgrund der mehreren getrennt voneinander zu verarbeitenden Proben nicht geeignet.

Problematisch im klinischen Alltag ist die Hydrierung der Kinder, ohne die die zeitgerechte Urinsammlung nicht möglich ist. Wird die Vorwässerung zu knapp vor Beginn der Untersuchung begonnen, liegt noch kein „steady state“ vor. Es kann so zu massiven Schwankungen des Urinflusses kommen. Bei Patient 12 betrug die erste 95-minütige Urinsammlung ein Volumen von 220 ml, bei der zweiten Sammlung nach ebenfalls 95 Minuten betrug das Volumen 630 ml.

Deshalb sollte in zukünftigen Protokollen die Hydrierung moderat sein und bereits zwei Stunden vor Beginn der Urinsammlungen starten.

Insgesamt ist die Betreuung durch Pflegepersonal aufwendig. Sowohl die Überwachung der adäquaten Hydrierung vor und während der Untersuchung, als auch die Verarbeitung der Urinportionen, das getrennte Messen, Abfüllen, Beschriften und Versenden ist

im klinischen Alltag kaum präzise durchzuführen. Leicht kann es zu Verwechslung oder unsachgemäßer Beschriftung und Dokumentation kommen, was die gesamte Untersuchung verfälschen würde.

#### **5.8.4 Beurteilung der Durchführbarkeit der Formelberechnung nach Schwartz ( $CCr_{Schw}$ )**

Die  $CCr_{Schw}$  ist für Patienten, Personal und auch aus ökonomischer Sicht die unproblematischste Methode. Eine Blutentnahme sowie das Messen der Körperlänge reichen aus, um die GFR zu bestimmen. Die Untersuchung kann ohne Einschränkung ambulant erfolgen. Insbesondere besteht bei dieser Methode die geringste Fehlermöglichkeit, da nur zwei Werte erhoben werden müssen. Die problematische Urinsammlung mit den bereits weiter oben beschriebenen Fehlerquellen ist nicht notwendig.

### **5.9 Gibt es einen Goldstandard zur GFR-Bestimmung?**

Immer wieder taucht der Begriff „Goldstandard“ in wissenschaftlichen Studien zur Nierenfunktionsprüfung auf. Allein die Tatsache, dass verschiedene Autoren verschiedene GFR-Bestimmungsmethoden als Goldstandard-Methode bezeichnen, sollte den Leser stutzig machen.

Zum Beispiel stellten Brown SC & O'Reilly PH (1991) die Iohexol-Clearance als neuen Goldstandard vor. Jedoch wurden nur 30 Patienten in dieser Studie untersucht. Ob diese geringe Fallzahl ausreicht, um eine Methode als neuen Goldstandard zu bezeichnen, ist mehr als fragwürdig. Stickle D et al. (1998) definierten die Inulin-Clearance in einer Studie zu Cystatin C als Goldstandard. Wobei die Arbeitsgruppe eine von Cole BR et al. (1972) propagierte Constant-Infusion-Technique ohne Urinsammlung verwendete, die nur eine von vielen Möglichkeiten der Durchführung einer Inulin-Clearance ist. Immerhin setzen Stickle et al. den Begriff Goldstandard in Anführungszeichen.

Apple FS et al. (1989) bezeichnen die Infusions-Inulin-Clearance ihrer vergleichenden GFR-Studie ebenfalls als „gold standard“. Dabei ist es keinesfalls Standard nur dreimalig über 30 Minuten Urin zu sammeln. Ob dieser über Katheter oder ohne gewonnen wurde, bleibt unklar.

Gibb DM et al. (1989) verglich die Standard-Inulin-Clearance mit der Cr-EDTA-Clearance durch Bland&Altman-Plots, beides Methoden, die häufig als Goldstandard bezeichnet wurden.

Allen Patienten gemeinsam war die Unterschätzung der CIn durch die Cr-EDTA um etwa 7,5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Zusätzlich zeigte sich jedoch eine beträchtliche Streuung um den Mittelwert von  $\pm 22$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> gemessen an der 2SD.

Somit wird deutlich, dass nicht einmal die Referenzmethoden zuverlässige Werte liefern und die Evaluation von neuen, einfacheren Methoden nie genaue Ergebnisse ergeben wird.

In Anbetracht der intraindividuellen GFR-Schwankungen, selbst bei idealer Standardisierung, sowie der Messungenauigkeiten aller GFR-Bestimmungsmethoden kann also von Goldstandard keine Rede sein. Es sollte klar sein, dass der Begriff „Referenzmethoden“ lediglich die Bezugsgröße in einer Studie beschreibt, ohne Anspruch auf tatsächliche Richtigkeit zu haben.

Diese Referenz-Methoden sollten dann ausschließlich für wissenschaftliche Fragestellungen eingesetzt werden, da sie immer mit einer großen Belastung für den Patienten und das medizinische Personal einhergehen.

Für den klinischen Alltag sind ausschließlich zwei Dinge von Bedeutung:

1. Es bedarf einer schnellen, kostengünstigen und einfach durchführbaren Methode, um klinisch relevante Nierenfunktionsverschlechterungen festzustellen, wie zum Beispiel das Serum-Kreatinin bei Erwachsenen oder die Schwartz-Clearance bei Kindern, und
2. die so aufgefallenen Patienten müssen schnellstmöglich in eine kompetente nephrologische Abteilung überwiesen werden.

### **5.10 Schlussfolgerung**

Zehn verschiedene GFR-Bestimmungsmethoden wurden mit der Single-Injection-Inulin-Clearance als Referenzmethode bei Kindern verglichen. Die Kurz-Zeit-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>KZM</sub>) wurde als mögliche Verbesserung gegenüber der klassischen 24-h-Kreatinin-Clearance (CCr<sub>24-h</sub>) sowie der Formel-Berechnung nach Schwartz (CCr<sub>Schw</sub>) evaluiert.

Außerdem wurde das neue Kreatinin-Essay Creatinin plus mit der herkömmlichen Jaffé-Methode und Kodak-Ektachem verglichen und die Auswirkung auf die GFR-Bestimmung analysiert. In der Zusammenschau der Ergebnisse erwies sich die CCr<sub>Schw</sub> (Jaffé) als die überlegenere Methode.

Die durchschnittliche Abweichung der ermittelten GFR-Werte gegenüber der Referenzmethode war am geringsten. Die Belastung für den Patienten war mit nur einer Blutentnahme sowie der Körperlängenmessung minimal. Der Zeitaufwand für medizinisches Personal sowie die Kosten waren ebenfalls geringer als für die anderen Methoden.

Die  $CCr_{KZM}$  war der  $CCr_{24-h}$  und der  $CCr_{Schw}$  hinsichtlich der Übereinstimmung mit der Referenzmethode sowie der Durchführbarkeit unterlegen.

Der Creatinin-plus-Test konnte keine Verbesserung der GFR-Bestimmung erbringen. Im Gegenteil, die Abweichungen waren größer als für Jaffé und Ektachem. Auch der Kostenaufwand war um ein Vielfaches höher, so dass es nicht sinnvoll ist, diesen Test für GFR-Bestimmungen heran zu ziehen.

Als überlegene Methode stellte sich der „alte“ Jaffé-Test heraus, der die besten Ergebnisse erzielte und mit nur 3 Cent pro Messung zudem der kostengünstigste war.

Abschließend muss jedoch bemerkt werden, dass keine der untersuchten Methoden in der Lage ist, die GFR bei Kindern mit hoher Präzision zu bestimmen, so dass eine beginnende Niereninsuffizienz leicht übersehen werden kann.

Ursache dafür sind die komplexen physiologischen Prozesse an der Niere auf zellulärer Ebene, die nur indirekt der Messbarkeit zugänglich sind. Selbst die verschiedenen in der Literatur verwendeten Referenzmethoden haben untereinander beträchtliche Abweichungen. Wahrscheinlich unterliegt die tatsächliche GFR auch im physiologischen Bereich ständigen Schwankungen, wie es z.B. nach einer proteinreichen Mahlzeit nachgewiesen werden konnte.

Dem Untersucher muss also klar sein, dass er im günstigsten Fall eine Annäherung an die tatsächliche GFR ermitteln kann. Die therapeutische Entscheidung darf a priori nicht von der genauen GFR abhängig sein. Für genaue Bestimmungen sollten mehrere Methoden kombiniert werden, um sich zusammen mit dem klinischen Zustand des Patienten ein Gesamtbild zu verschaffen.

Für die annähernde GFR-Bestimmung, wie auch für Verlaufskontrollen stellt die  $CCr_{Schw}$  (Jaffé) eine attraktive, leicht durchzuführende und kostengünstige Methode dar.

## IV. Literaturverzeichnis

1. Agarwal R. Letter - Creatinine clearance with cimetidine for measurement of GFR. *Lancet* 1993; 188-188.
2. Alinei P and Guignard JP. Estimation of glomerular filtration rate in infants. *J Pediatr* 1985; 2: 345-346.
3. Apple FS, Benson P, Abraham PA, Rosano TG, Halstenson CE. Assessment of renal function by inulin clearance: comparison with creatinine clearance as determined by enzymatic methods. *Clin Chem* 1989; 2: 312-314.
4. Arant BS, Jr., Edelmann CM, Jr., Spitzer A. The congruence of creatinine and inulin clearances in children: use of the Technicon AutoAnalyzer. *J Pediatr* 1972; 3: 559-561.
5. Back SE and Nilsson-Ehle P. Re: Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard [letter; comment]. *J Urol* 1993; 2: 378
6. Bennett LN, Jandreski MA, Myers TF, Kahn SE, Hurley RM. A comparison of two common clinical methods with high-pressure liquid chromatography for the measurement of creatinine concentrations in neonates. *Pediatr Nephrol* 1991; 4: 379-382.
7. Berglund F, Killander J, Pompeius R. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man. *J Urol* 1975; 6: 802-808.
8. Bjarnadottir M, Grubb A, Olafsson I. Promoter-mediated, dexamethasone-induced increase in cystatin C production by HeLa cells. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 7: 617-623.
9. Bland JM and Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 8476: 307-310.
10. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol* 1998; 2: 125-129.
11. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C--a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics* 1998; 5: 875-881.
12. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Clin Chem* 1999; 10: 1866-1868.
13. Boyne P, Robinson BA, Murphy P, McKay M. Enzymatic correction of interference in the kinetic Jaffe reaction for determining creatinine in plasma. *Clin Chem* 1985; 9: 1564-1565.

14. Brion LP, Fleischman AR, McCarton C, Schwartz GJ. A simple estimate of glomerular filtration rate in low birth weight infants during the first year of life: noninvasive assessment of body composition and growth. *J Pediatr* 1986; 4: 698-707.
15. Broberger U. Determination of glomerular filtration rate in the newborn. Comparison between results obtained by the single injection technique without collection of urine and the standard clearance technique. *Acta Paediatr Scand* 1973; 6: 625-629.
16. Brown SC and O'Reilly PH. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard [see comments]. *J Urol* 1991; 3: 675-679.
17. Brzin J, Popovic T, Turk V, Borchart U, Machleidt W. Human cystatin, a new protein inhibitor of cysteine proteinases. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 1: 103-109.
18. Burgess E, Blair A, Krichman K, Cutler RE. Inhibition of renal creatinine secretion by cimetidine in humans. *Ren Physiol* 1982; 1: 27-30.
19. Cockcroft DW and Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 1: 31-41.
20. Cole BR, Giangiacomo J, Ingelfinger JR, Robson AM. Measurement of renal function without urine collection. A critical evaluation of the constant-infusion technic for determination of inulin and para-aminohippurate. *N.Engl J Med* 1972; 22: 1109-1114.
21. Colle A, Tavera C, Prevot D, Leung-Tack J, Thomas Y, Manuel Y, Benveniste J, Leibowitch J. Cystatin C levels in sera of patients with human immunodeficiency virus infection. A new avidin-biotin ELISA assay for its measurement. *J Immunoassay* 1992; 1: 47-60.
22. Counahan R, Chantler C, Ghazali S, Kirkwood B, Rose F, Barratt TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma creatinine concentration in children. *Arch.Dis.Child* 1976; 11: 875-878.
23. Donath A. The simultaneous determination in children of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow by the single injection clearance technique. *Acta Paediatr Scand* 1971; 5: 512-520.
24. Dubb JW, Stote RM, Familiar RG, Lee K, Alexander F. Effect of cimetidine on renal function in normal man. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 1: 76-83.
25. Duranteau J, Pussard E, Berdeaux A, Giudicelli JF. Role of the renin-angiotensin system in systemic and regional vascular responses to orthostatic stress in healthy volunteers. *Fundam Clin Pharmacol* 1995; 5: 479-487.
26. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 1998; 6: 393-397.

27. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Evaluation of the Dade Behring N Latex Cystatin C assay on the Dade Behring Nephelometer II System. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 1: 1-8.
28. Fawer CL, Torrado A, Guignard JP. Single injection clearance in the neonate. *Biol Neonate* 1979; 5-6: 321-324.
29. Filler G and Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 2003; 981-985.
30. Filler G, Priem F, Vollmer I, Gellermann J, Jung K. Diagnostic sensitivity of serum cystatin for impaired glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 1999; 6: 501-505.
31. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 1997; 6 Pt 1: 1016-1022.
32. Florijn KW, Barendregt JN, Lentjes EG, van Dam W, Prodjosudjadi W, van Saase JL, van Es LA, Chang PC. Glomerular filtration rate measurement by "single-shot" injection of inulin. *Kidney Int* 1994; 1: 252-259.
33. Gibb DM, Dalton NR, Barratt MT. Measurement of glomerular filtration rate in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1989; 2: 131-139.
34. Gifford RR and Tilberg AF. Cimetidine reduces cyclosporine inhibition of interleukin-2 production. *J Surg Res* 1988; 3: 276-280.
35. Giovannetti S and Barsotti G. In defense of creatinine clearance. *Nephron* 1991; 1: 11-14.
36. Greenwald I. Chemistry of Jaffé's reaction for creatinine. *J Am Chem Soc* 1925; 1443-1447.
37. Gretz N, Kühnle HF, Strauch M. A SAS procedure for evaluation inulin clearance data. *Tierie I (Ed)*: 1989; 564-573.
38. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985; 5: 499-503.
39. Guignard JP and Drukker A. Why do newborn infants have a high plasma creatinine? *Pediatrics* 1999; 4: e49
40. Hadj-Aissa A, Cochat P, Dubourg L, Wright C, Pozet N. Measurement of renal function in children. *Arch Pediatr* 1994; 3: 273-280.
41. Haenggi MH, Pelet J, Guignard JP. Estimation of glomerular filtration rate by the formula  $GFR = K \times T/P_c$ . *Arch Pediatr* 1999; 2: 165-172.



42. Hahn A and Meyer G. Über die gegenseitige Umwandlung von Kreatin und Kreatinin. *Zschr Biol* 1923; 91-117.
43. Hart O. Ein neues, inulinähnliches Polyfructose-Saccharid. *Klin Wochenschr* 1963; 769-770.
44. Helin I, Axenram M, Grubb A. Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 1998; 4: 221-225.
45. Hellerstein S, Alon U, Warady BA. Creatinine for estimation of glomerular filtration rate [see comments]. *Pediatr Nephrol* 1992; 6: 507-511.
46. Hellerstein S, Berenbom M, Alon US, Warady BA. Creatinine clearance following cimetidine for estimation of glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 1998; 1: 49-54.
47. Herget-Rosenthal S, Kribben A, Pietruck F, Ross B, Philipp T. Two by two hour creatinine clearance--repeatable and valid. *Clin Nephrol* 1999; 6: 348-354.
48. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998; 7: 1535-1539.
49. Kleinknecht C, Antignac C, Dechaux M, Dartois AM. Kidney functional reserve. Studies in humans. *Ann Pediatr* 1990; 2: 105-108.
50. Kos J, Stabuc B, Schweiger A, Krasovec M, Cimerman N, Kopitar-Jerala N, Vrhovec I. Cathepsins B, H, and L and their inhibitors stefin A and cystatin C in sera of melanoma patients. *Clin Cancer Res* 1997; 10: 1815-1822.
51. Krutzen E, Back SE, Nilsson-Ehle I, Nilsson-Ehle P. Plasma clearance of a new contrast agent, iohexol: a method for the assessment of glomerular filtration rate. *J Lab Clin Med* 1984; 6: 955-961.
52. Kuehnle HF, von Dahl K, Schmidt FH. Fully enzymatic inulin determination in small volume samples without deproteinization. *Nephron* 1992; 1: 104-107.
53. Levey AS. Measurement of renal function in chronic renal disease [clinical conference]. *Kidney Int.* 1990; 1: 167-184.
54. Liebig J. Kreatin und Kreatinin, Bestandtheile des Harns der Menschen. *J.Prakt.Chem.* 1847; 288-292.
55. Mayers VC and Fine MS. Comparative distribution of urea, creatinine, uric acid and sugar in blood and spinal fluid. *J.Biol.Chem.* 1919; 239-244.
56. Mayersohn M, Conrad KA, Achari R. The influence of a cooked meat meal on creatinine plasma concentration and creatinine clearance. *Br J Clin Pharmacol.* 1983; 2: 227-230.

57. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffe creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clin Lab* 2000; 1-2: 53-55.
58. Mazzachi BC, Phillips JW, Peake MJ. Is the creatinine assay suitable for neonates. *Clin Biochem Revs* 1998; 82.
59. Mertz DP. Observations on the renal clearance and the volume of distribution of polyfructosan-S, a new inulin like substance. *Experimentia* 1963; 248-249.
60. Mitch WE, Collier VU, Walser M. Creatinine metabolism in chronic renal failure. *Clin Sci* 1980; 4: 327-335.
61. Morris K, Skinner R, Keir M, Palmer J, Lambert H, Pearson A, Coulthard M. Problems with the single injection method for the measurement of the glomerular filtration rate in man. *Clin Sci* 1991; 6: 831-833.
62. Morris MC, Allanby CW, Toseland P, Haycock GB, Chantler C. Evaluation of a height/plasma creatinine formula in the measurement of glomerular filtration rate. *Arch Dis Child* 1982; 8: 611-615.
63. Muller-Suur R, Goransson M, Olsen L, Backlund G, Backlund L. Inulin single injection clearance. Microsample technique useful in children for determination of glomerular filtration rate. *Clin. Physiol* 1983; 1: 19-27.
64. Odland B, Hallgren R, Sohtell M, Lindstrom B. Is <sup>125</sup>I iothalamate an ideal marker for glomerular filtration? *Kidney Int* 1985; 1: 9-16.
65. Owen JA, Iggo G, Schandrett FJ, Steward CP. The determination of creatinine in plasma or serum and in urine. A critical examination. *Biochem J* 1954; 426-437.
66. Payne RB. Creatinine clearance: a redundant clinical investigation. *Ann Clin Biochem* 1986; Pt 3: 243-250.
67. Perrone RD. Means of clinical evaluation of renal disease progression. *Kidney Int Suppl* 1992; S26-S32.
68. Prescott LF, Freestone S, McAuslane JA. Reassessment of the single intravenous injection method with inulin for measurement of the glomerular filtration rate in man. *Clin Sci* 1991; 2: 167-176.
69. Rehberg PB. Über die Bestimmung der Menge des Glomerulumfiltrats mittels Kreatinin als Nierenfunktionsprüfung, nebst einigen Bemerkungen über die Theorien der Harnbereitung. *Zentralbl. Inn. Med.* 1929; 367-377.
70. Rehling M, Moller ML, Thamdrup B, Lund JO, Trap-Jensen J. Simultaneous measurement of renal clearance and plasma clearance of <sup>99m</sup>Tc-labelled diethylenetriaminepenta-acetate, <sup>51</sup>Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate and inulin in man. *Clin Sci* 1984; 5: 613-619.

71. Reinhart GA and Lohmeier TE. Role of the renin-angiotensin system in mediating the effects of posture on renal function. *Am J Physiol* 1996; 1 Pt 2: R282-R288.
72. Ricos C, Jimenez CV, Hernandez A, Simon M, Perich C, Alvarez V, Minchinela J, Macia M. Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clin Chem* 1994; 3: 472-477.
73. Rosenbaum JL, Kramer MS, Raja RM, Manchanda R, Lazaro N. Determination of inulin and p-aminohippurate clearances without urine collecting. *Nephron* 1973; 347-354.
74. Roubenoff R, Drew H, Moyer M, Petri M, Whiting-O'Keefe Q, Hellmann DB. Oral cimetidine improves the accuracy and precision of creatinine clearance in lupus nephritis. *Ann Intern Med* 1990; 7: 501-506.
75. Rudd GD, Hull JH, Morris CR, Bryan CK. Estimating creatinine clearance in children: comparison of three methods. *Am J Hosp Pharm* 1980; 11: 1514-1517.
76. Rudd PT, Hughes EA, Placzek MM, Hodes DT. Reference ranges for plasma creatinine during the first month of life. *Arch Dis Child* 1983; 3: 212-215.
77. Sakai T, Leumann EP, Holliday MA. Single injection clearance in children. *Pediatrics* 1969; 6: 905-911.
78. Sapirstein LA, Vidt DG, Mandel MJ, Hanusek G. Volumes of distribution and clearances of intravenously injected creatinine in the dog. *Am J Physiol* 1955; 330-336.
79. Schumann R. Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im menschlichen Schweiß. *Z. Ges. Exp. Med.* 1831; 145-152.
80. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987; 3: 571-590.
81. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM, Jr., Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 2: 259-263.
82. Shannon JA. The renal excretion of creatinine in man. *J Clin Invest* 1935; 403-410.
83. Shannon JA and Smith HW. The excretion of inulin, xylose und urea by normal and phlorizinized man. *J Clin Invest* 1935; 393-410.
84. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985; 5: 830-838.

85. Siebenhofer A, Meinitzer A, Brandmair J, Plank J, Pieber TR. Variability of glomerular filtration rate estimation using single injection methods in Type 1 diabetic patients. *Diabet.Med* 2001; 6: 464-468.
86. Siekmann L. Determination of creatinine in human serum by isotope dilution-mass spectrometry. Definitive methods in clinical chemistry, IV. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 3: 137-144.
87. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 2: 97-101.
88. Skinner R, Cole M, Pearson AD, Keir MJ, Price L, Wyllie RA, Coulthard MG, Craft AW. Inaccuracy of glomerular filtration rate estimation from height/plasma creatinine ratio. *Arch Dis Child* 1994; 5: 387-390.
89. Springate JE, Christensen SL, Feld LG. Serum creatinine level and renal function in children. *Am J Dis Child* 1992; 10: 1232-1235.
90. Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott MG. Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1998; 6 Pt 1: 1334-1338.
91. Stockl D and Reinauer H. Candidate reference methods for determining target values for cholesterol, creatinine, uric acid, and glucose in external quality assessment and internal accuracy control. I. Method setup [see comments]. *Clin Chem* 1993; 6: 993-1000.
92. Van Acker BA, Koomen GC, Koopman MG, de Waart DR, Arisz L. Creatinine clearance during cimetidine administration for measurement of glomerular filtration rate [see comments]. *Lancet* 1992; 8831: 1326-1329.
93. Vassault A, Cherruau B, Labbe D, Alabrune B, Baltassat P, Bonete R, Carroger G, Costantini S, Georges P, Giroud C. Serum creatinine assay: results of a multicentric study with 16 analytical systems. *Ann Biol Clin* 1992; 2: 81-95.
94. Vogeli B, Riedwyl H, Donath A, Oetliker O. Comparison of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow determinations obtained by a single injection technique and by means of a standard clearance technique in children. *Acta Paediatr Scand* 1971; 5: 528-532.
95. Waller DG, Fleming JS, Ramsey B, Gray J. The accuracy of creatinine clearance with and without urine collection as a measure of glomerular filtration rate. *Postgrad.Med.J.* 1991; 783: 42-46.
96. Welch MJ, Cohen A, Hertz HS, Ng KJ, Schaffer R, Van der LP, White E. Determination of serum creatinine by isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method. *Anal Chem* 1986; 8: 1681-1685.

97. Ylinen EA, Ala-Houhala M, Harmoinen AP, Knip M. Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 1999; 6: 506-509.

## V. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Altersverteilung .....	19
Abb. 2: GFR Verteilung, ermittelt durch CIn.....	19
Abb. 3: Serum-Kreatinin-Verteilung bestimmt nach Jaffé.....	19
Abb. 4: Studienprotokoll .....	22
Abb. 5: Beispiel eines Inulin-Konzentrationsverlaufes bei Patient 45 mit guter Nierenfunktion: GFR 141 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> .....	24
Abb. 6: Reaktionsabläufe der Inulin-Bestimmung.....	29
Abb. 7: Lineare Regression des.....	31
Abb. 8: Ermittlung des Konzentrations-Koeffizienten k.....	31
Abb. 9: Präzisionskontrolle (hoch).....	33
Abb. 10: Präzisionskontrolle (niedrig) .....	33
Abb. 11: Serum-Kreatinin Mittelwerte aller 27 Patienten.....	40
Abb. 12: Urin-Kreatinin Mittelwerte aller 27 Patienten.....	41
Abb. 13: Übersicht der Mittelwerte der verschiedenen GFR-Bestimmungen bei allen 27 Patienten.....	42
Abb. 14: Vergleich CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Jaffé) .....	44
Abb. 15: Vergleich CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Ektachem) .....	44
Abb. 16: Vergleich CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Creatinin plus).....	44
Abb. 17: Vergleich CIn - CCr <sub>KZM</sub> (Jaffé) .....	46
Abb. 18: Vergleich CIn - CCr <sub>KZM</sub> (Ektachem) .....	45
Abb. 19: Vergleich CIn - CCr <sub>KZM</sub> (Creatinin plus) .....	46
Abb. 20: Vergleich CIn – CCr <sub>Schw</sub> (Jaffé) .....	47
Abb. 21: Vergleich CIn – CCr <sub>Schw</sub> (Ektachem) .....	47
Abb. 22: Vergleich CIn - CCr <sub>Schw</sub> Creatinin plus.....	47
Abb. 23: Vergleich CIn – 1/Cystatin C .....	48
Abb. 24: Vergleich CIn – GFR <sub>CysC</sub> .....	48
Abb. 25: 95%-Konfidenzintervalle aller Korrelationen .....	50
Abb. 26: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Jaffé) .....	52
Abb. 27: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Ektachem) .....	52
Abb. 28: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr <sub>24-h</sub> (Creatinin plus).....	53
Abb. 29: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr <sub>KZM</sub> (Jaffé) .....	54
Abb. 30: Übereinstimmung zwischen CIn – CCr <sub>KZM</sub> (Ektachem) .....	54

Abb. 31: Übereinstimmung zwischen $\text{CIn} - \text{CCr}_{\text{KZM}}$ (Creatinin plus).....	55
Abb. 32: Übereinstimmung zwischen $\text{CIn} - \text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Jaffé) .....	56
Abb. 33: Übereinstimmung zwischen $\text{CIn} - \text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Ektachem) .....	57
Abb. 34: Übereinstimmung zwischen $\text{CIn} - \text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Creatinin plus).....	57
Abb. 35: Übereinstimmung zwischen $\text{CIn} - \text{GFR}_{\text{CysC}}$ mit Regressionsanalyse der Datenpunkte .....	58
Abb. 36: Übersicht aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots .....	60
Abb. 37: Regressionsanalyse zur Ermittlung der Konstanten k für Jungen und Mädchen vom 2. bis 12. Lj. ....	61
Abb. 38: Bland&Altman-Plot – Übereinstimmung zwischen $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Jaffé) mit neuem k und $\text{CIn}$ .....	62
Abb. 39: Gegenüberstellung der Ergebnisse $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ mit neuen und alten k .....	63
Abb. 40: Darstellung der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden; hier $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Jaffé) .....	64
Abb. 41: Darstellung der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden; hier $\text{CCr}_{\text{KZM}}$ (Jaffé) .....	64
Abb. 42: Bland&Altman-Plot $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ (Jaffé) der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden .....	65
Abb. 43: Bland&Altman-Plot $\text{CCr}_{\text{KZM}}$ (Jaffé) der Tag-zu-Tag-Untersuchungen bei erwachsenen Kontrollprobanden .....	65
Abb. 44: Graphische Darstellung der Daten der Bland&Altman-Plots.....	67
Abb. 45: Korrelation $\text{CIn}$ und $\text{CCr}_{24\text{-h}}$ (Creatinin plus) .....	69
Abb. 46: Korrelation $\text{CIn}$ und $\text{CCr}_{24\text{-h}}$ (Creatinin plus), $\text{GFR } 50 - 100 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .....	69
Abb. 47: Vergleich $\text{CIn}$ und $\text{CCr}_{24\text{-h}}$ (Creatinin plus) dargestellt als Bland&Altman-Plot .....	70
Abb. 48: Inulin-Konzentrationen bei Patient 46 mit einer GFR von $126 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ .....	73
Abb. 49: Korrelation zwischen $\text{CIn}$ und $\text{CCr}_{\text{Schw}}$ nach Schwartz et al. 1976.....	80
Abb. 50: Proximal-tubuläre Sekretion von organischen Säuren und Basen (nach Klink und Silbernagel, 1994; modifiziert) .....	85

## VI. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Verkürzte Schreibweise der neun untersuchten Methoden .....	22
Tab. 2 Regression Konzentrations-Koeffizient .....	31
Tab. 3 Konz-Koeff. Inu-Test .....	31
Tab. 4 Präzision Inulin (hoch) .....	33
Tab. 5 Präzision Inulin (niedrig).....	33
Tab. 6: Vergleich CIn – CCr <sub>24-h</sub> .....	44
Tab. 7: Vergleich CIn – CCr <sub>KZM</sub> .....	45
Tab. 8: Vergleich CIn – CCr <sub>Schw</sub> .....	46
Tab. 9: 95%-Konfidenzintervalle aller Korrelationen .....	49
Tab. 10: Übersicht aller Ergebnisse der Bland&Altman-Plots .....	59
Tab. 11: Neue Konstanten k getrennt nach verschiedenen Kreatinin-Bestimmungsmethoden .....	62
Tab. 12: Gegenüberstellung der Ergebnisse CCr <sub>Schw</sub> mit neuen und alten k.....	63
Tab. 13: Übersicht der Bland&Altman-Plots zu den Tag-zu-Tag-Untersuchungen .....	67
Tab. 14: Übersicht über die GFR-Bestimmungen .....	77
Tab. 15: Patientenprofil .....	116
Tab. 16: Profil erwachsener Kontrollprobanden .....	117



## **VII. Anhang**

- Studienprotokoll
- I a) Informationsblatt für Eltern zur Studie:
- I b) Informationsblatt für Jugendliche zur Studie
- II a) Aufklärungsblatt für Eltern zur Studie
- II b) Aufklärungsblatt für Jugendliche zur Studie
- Patientenprofil
- Profil der erwachsenen Kontrollprobanden
- Datenübersicht

# Kindernephrologie Marburg

## Single-Injection-Inulin-Clearance:



Untersucher: ..... Untersuchungs-Datum: .....

### Patientenangaben:

**NAME, VORNAME:** ..... **GEB. AM:** .....  
**GRÖßE:** ..... cm **GEWICHT:** ..... kg **KOF\*:** ..... m<sup>2</sup> **DOSIS\*:** ..... ml  
**GRUNDERKRANKUNG:** .....

### Angaben zur Nierenfunktion:

Serum-Kreatinin: ..... mg/dl  
24-h-Kreatinin-Clearance (falls vorhanden): ..... ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

folgender Kasten wird vom Labor  
ausgefüllt:

Inulinprotokoll – Nr.: ..... Kenninitialen: ..... Bestimmungsdatum: .....

**Inulin-Clearance: ..... ml/min/1,73 m<sup>2</sup>**

Soll-min	0	3	15	30	45	60
Soll-Zeit	:	:	:	:	:	:
Ist-Zeit	:	:	:	:	:	:
Ist-min						

Soll-min	90	120	150	180	210	240
Soll-Zeit	:	:	:	:	:	:
Ist-Zeit	:	:	:	:	:	:
Ist-min						

## ANHANG I A

### Informationsblatt für Eltern zur Studie:

#### **GFR-BESTIMMUNGEN BEI KINDERN UND JUGENDLICHEN: EVALUATION EINER KURZ-ZEIT-METHODE IM VERGLEICH ZUR 24-H-KREATININCLEARANCE UND SINGLE-INJECTION-INULINCLEARANCE**

Studienleiter ist PD Dr. med. G. Klaus, Kinderklinik der Philipps-Universität Marburg

Sehr geehrte/r Frau/Herr ...

Wir möchten eine neue Methode zur Messung der Nierenfunktion untersuchen und hoffen, dass wir damit bisherige Untersuchungen in Zukunft ersetzen können.

Wir bitten Sie hiermit, mit Ihrem Kind an dieser Studie teilzunehmen.

Im Folgenden erläutern wir Ihnen das Projekt näher:

Zur Kontrolle aller Nierenerkrankungen ist die Überprüfung der Nierenfunktion von zentraler Bedeutung. Die wichtigste Funktion der Nieren ist es, das Blut zu filtern und von Giftstoffen zu befreien. Die Menge des filterten Blutes, die wir die Glomeruläre Filtrationsrate oder kurz GFR nennen, gibt uns entscheidende Hinweise zum derzeitigen Zustand der Nieren. Durch mehrmalige Messungen kann der Verlauf der Erkrankung beurteilt und medizinische Maßnahmen bestmöglich auf Ihre Tochter/Ihren Sohn abgestimmt werden.

Es werden derzeit zwei unterschiedlich aufwendige Routineuntersuchungen in der Universitäts-Kinderklinik Marburg durchgeführt, die häufige Blutabnahmen und eine Urinsammlung über 24 Stunden erfordern.

Zu solch einer Untersuchung ist Ihre Tochter/Ihr Sohn in die Kinderklinik bestellt worden.

Zeitgleich möchten wir nun eine neue Methode untersuchen, die ein Ersatz für die beiden o.g. werden könnte.

Die Studie hat für Ihr Kind weder einen Vorteil noch eine negative Konsequenz.

Auf Ihr Kind käme folgende Mehrbelastung zu:

- Ihre Tochter/Ihr Sohn müsste innerhalb von etwa 4,5 Stunden viermal auf Aufforderung die Blase vollständig entleeren.
- Ihrer Tochter/Ihrem Sohn müsste einmal Blut über eine Verweilkanüle abgenommen werden, die bereits für die gleichzeitige Routineuntersuchung gelegt wurde

Zeigt sich diese neue Methode als verlässlich und genau, würden in Zukunft den Kindern und Jugendlichen die häufigen Blutentnahmen sowie das 24-stündige Urinsammlung erspart bleiben.

Wir möchten Sie nachdrücklich darauf hinweisen, dass die Teilnahme an dieser Studie *freiwillig* ist. Eine Nichtteilnahme würde die medizinische Versorgung Ihres Kindes nicht nachteilig beeinflussen. Sie dürfen *jederzeit*, ohne Nennung von Gründen, die Untersuchung zu beenden.

Die Ergebnisse der Studie werden in der Krankenakte dokumentiert.

Außerdem dokumentieren die Untersucher die Ergebnisse in gesonderten Studienprotokollen sowie im Computer, die Daten werden wie folgt in einer Code-Liste anonymisiert:

- 1) Die Studienteilnehmer werden durchnummeriert.
- 2) Als Kenninitialen werden die Anfangsbuchstaben von Vor- und Zunamen verwendet.
- 3) Das Untersuchungsdatum wird ins Studienprotokoll aufgenommen.

Die Code-Liste zur Identifikation der Studienteilnehmer ist nur den Versuchsleitern zugänglich und wird nach Abschluss der Studie vernichtet.

## ANHANG I B

### Informationsblatt für Jugendliche zur Studie:

#### **GFR-BESTIMMUNGEN BEI KINDERN UND JUGENDLICHEN: EVALUATION EINER KURZ-ZEIT-METHODE IM VERGLEICH ZUR 24-H-KREATININCLEARANCE UND SINGLE-INJECTION-INULINCLEARANCE**

Studienleiter ist PD Dr. med. G. Klaus, Kinderklinik der Philipps-Universität Marburg

Sehr geehrte/r...

Wir möchten eine neue Methode zur Messung der Nierenfunktion untersuchen und hoffen, dass wir damit bisherige Untersuchungen in Zukunft ersetzen können.

Wir bitten Dich hiermit an dieser Studie teilzunehmen.

Im Folgenden erläutern wir Dir das Projekt näher:

Zur Kontrolle aller Nierenerkrankungen ist die Überprüfung der Nierenfunktion von zentraler Bedeutung. Die wichtigste Funktion der Nieren ist es, das Blut zu filtern und von Giftstoffen zu befreien. Die Menge des filterten Blutes, die wir die Glomeruläre Filtrationsrate oder kurz GFR nennen, gibt uns entscheidende Hinweise zum derzeitigen Zustand der Nieren. Durch mehrmalige Messungen kann der Verlauf der Erkrankung beurteilt und medizinische Maßnahmen bestmöglich auf Dich abgestimmt werden.

Es werden derzeit zwei unterschiedlich aufwendige Routineuntersuchungen in der Universitäts-Kinderklinik Marburg durchgeführt, die häufige Blutabnahmen und eine Urinsammlung über 24 Stunden erfordern.

Zu solch einer Untersuchung bist Du in die Kinderklinik bestellt worden.

Zeitgleich möchten wir nun eine neue Methode untersuchen, die ein Ersatz für die beiden o.g. werden könnte.

Die Studie hat für Dich weder einen Vorteil noch eine negative Konsequenz.

Auf Dich käme folgende Mehrbelastung zu:

- Du müsstest innerhalb von etwa 4,5 Stunden viermal auf Aufforderung die Blase vollständig entleeren.
- Dir müsste einmal Blut über eine Verweilkanüle abgenommen werden, die bereits für die gleichzeitige Routineuntersuchung gelegt wurde

Zeigt sich diese neue Methode als verlässlich und genau, würden in Zukunft den Kindern und Jugendlichen die häufigen Blutentnahmen sowie die 24-stündige Urinsammlung erspart bleiben.

Wir möchten Dich nachdrücklich darauf hinweisen, dass die Teilnahme an dieser Studie *freiwillig* ist.

Eine Nichtteilnahme würde Deine medizinische Versorgung nicht nachteilig beeinflussen.

Du darfst *jederzeit*, ohne Nennung von Gründen, die Untersuchung zu beenden.

Die Ergebnisse der Studie werden in der Krankenakte dokumentiert.

Außerdem dokumentieren die Untersucher die Ergebnisse in gesonderten Studienprotokollen sowie im Computer, die Daten werden wie folgt in einer Code-Liste anonymisiert:

- 1) Die Studienteilnehmer werden durchnummeriert.
- 2) Als Kenninitialen werden die Anfangsbuchstaben von Vor- und Zunamen verwendet.
- 3) Das Untersuchungsdatum wird ins Studienprotokoll aufgenommen.

Die Code-Liste zur Identifikation der Studienteilnehmer ist nur den Versuchsleitern zugänglich und wird nach Abschluss der Studie vernichtet.

## ANHANG II A

### Teilnahmeerklärung für Eltern zur Studie:

#### **GFR-BESTIMMUNGEN BEI KINDERN UND JUGENDLICHEN: EVALUATION EINER KURZ-ZEIT-METHODE IM VERGLEICH ZUR 24-H-KREATININCLEARANCE UND SINGLE-INJECTION-INULINCLEARANCE**

Studienleiter ist PD Dr. med. G. Klaus, Kinderklinik der Philipps-Universität Marburg

Ich.....

Vater/Mutter von.....

bestätige, dass mir der Inhalt der Studie ausführlich von Dr. .... erklärt wurde.

Ich hatte die Möglichkeit und die Zeit, Fragen zu stellen und mir Gedanken über die Antworten zu machen.

Ich habe den Inhalt und den eventuellen Nutzen der Studie sowie die Handlungen an meiner Tochter/meinem Sohn während der Studie klar verstanden.

Das Aufklärungsblatt wurde mir ausgehändigt.

Meine Teilnahme an der Studie ist freiwillig und ich kann jederzeit, ohne Nennung von Gründen, die Mitarbeit abbrechen.

Ein Abbruch wird die ärztliche Behandlung meiner Tochter/meines Sohnes nicht beeinträchtigen.

Ich bestätige hiermit die Teilnahme an der klinischen Studie, über die ich vollständig informiert wurde.

Ebenfalls stimme ich der Computer-Verarbeitung sowie der Speicherung von anonymisierten Daten zu.

Unterschrift des Erziehungsberechtigten

Ort, Datum

.....

.....

Hiermit bestätige ich, dass ich dem oben genannten Elternteil des Patienten den Inhalt und den eventuellen Nutzen der Studie sowie die Handlungen an seiner Tochter/seinem Sohn während der Studie ausführlich erklärt habe.

Unterschrift des Untersuchers

Ort, Datum

.....

.....

## ANHANG II B

### Teilnahmeerklärung für Jugendliche zur Studie:

#### **GFR-BESTIMMUNGEN BEI KINDERN UND JUGENDLICHEN: EVALUATION EINER KURZ-ZEIT-METHODE IM VERGLEICH ZUR 24-H-KREATININCLEARANCE UND SINGLE-INJECTION-INULINCLEARANCE**

Studienleiter ist PD Dr. med. G. Klaus, Kinderklinik der Philipps-Universität Marburg

Ich,.....bestätige, dass mir der Inhalt der Studie ausführlich von Dr. .... erklärt wurde.

Ich hatte die Möglichkeit und die Zeit, Fragen zu stellen und mir Gedanken über die Antworten zu machen.  
Ich habe den Inhalt und den eventuellen Nutzen der Studie sowie die an mir vorgenommenen Handlungen während der Studie klar verstanden.

Das Aufklärungsblatt wurde mir ausgehändigt.

Meine Teilnahme an der Studie ist freiwillig und ich kann jederzeit, ohne Nennung von Gründen, die Mitarbeit abbrechen.

Ein Abbruch wird meine ärztliche Behandlung nicht beeinträchtigen.

Ich bestätige hiermit die Teilnahme an der klinischen Studie, über die ich vollständig informiert wurde.  
Ebenfalls stimme ich der Computer-Verarbeitung sowie der Speicherung von anonymisierten Daten zu.

Unterschrift der/des Probandin/Probanden

Ort, Datum

.....

.....

Hiermit bestätige ich, dass ich der/dem Probandin/Probanden den Inhalt und den eventuellen Nutzen der Studie sowie die Handlungen an ihr/ihm während der Studie ausführlich erklärt habe.

Unterschrift des Untersuchers

Ort, Datum

## Patientenprofil

Nr.	KI	Geschl.	Alter	Bes.	U.-Datum	Cr-Jaffé	CIn	Erkrankung / Diagnosen
11	SS	m	13	<b>P</b>	01.08.97	2,46	23	CNI bei vesico-uretralem Reflux bds. III°
13	KG	w	11		26.08.97	0,68	106	Z.n. NTx vor zwei Jahren, Jahres-Check-up
14	SK	w	17	DM	27.08.97	0,85	115	IDDM, V.a. diabetische Nephropathie
15	CL	w	16		04.09.97	1,19	63	Z.n. NTx vor 7 Jahren, Jahres-Check-up
16	JH	m	5	<b>P</b>	16.09.97	<b>5,08</b>	20	Prune-Belly-like-Syndrom (Kein Kryptorchismus)
17	AES	m	<b>3</b>		19.09.97	0,49	95	V.a. Glomerulopathie
18	KB	w	16	P	23.09.97	1,24	52	Z.n. Purpura-Schönlein-Hennoch; renale Hypertonie; große Proteinurie
21	CV	w	14	<b>P</b>	15.10.97	1,7	40	Ig-A-Nephropathie
22	GA	w	13		21.10.97	1,25	52	Z.n. NTx vor 4 Jahren, Jahres-Check-up
23	AP	m	17		24.10.97	1,05	100	klassisches Bartter-Syndrom; Indometazin-Dauertherapie
25	SH	m	15		27.10.97	1,05	72	klassisches Bartter-Syndrom; Indometazin-Dauertherapie
26	SS	w	15	P	27.10.97	0,86	70	klassisches Bartter-Syndrom; Indometazin-Dauertherapie
29	TW	w	12		29.10.97	0,6	58	Z.n. NTx vor zwei Jahren; Jahres-Check-up
30	SG	w	6		09.11.97	0,64	77	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
32	RZ	m	15		19.11.97	1,27	66	Z.n. NTx vor 3 Jahren; Jahres-Check-up
33	RR	m	13		24.11.97	0,86	82	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
35	MT	w	15		30.11.97	1,22	37	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
37	DR	m	17		06.01.98	1,23	76	obstruktive Uropathie; Nephrektomie li., milde CNI; cerebrales Anfallsleiden; M. Meulenkracht
38	AB	m	12		11.01.98	0,93	76	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
40	AI	m	14		15.01.98	0,87	76	Z.n. NTx vor 2 Jahren; Jahres-Check-up
41	PS	m	15		16.01.98	1,13	69	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
43	BL	m	11		25.01.98	1,25	51	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
45	MC	m	15	<b>P</b>	03.02.98	0,78	141	Nephrotisches Syndrom; membranöse GN III°-IV°
46	MD	w	12	P	05.02.98	<b>0,58</b>	126	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie
47	PZ	m	17		08.10.98	0,81	90	klassisches Bartter-Syndrom; Indometazin-Dauertherapie
50	CS	m	9		03.04.98	1,23	71	Z.n. NTx; Jahres-Check-up
51	CD	w	14		16.04.98	1,01	65	Hyper-PGE-Syndrom; Nephrocalzinose; Indometazin-Dauertherapie

KI: Kenninitialen; **P**: große Proteinurie; P: kleine Proteinurie; DM: Diabetes mellitus;

**Tab. 15: Patientenprofil**

## Profil erwachsener Kontrollprobanden

Nr.	KI	Geschl.	Alter	U.-Datum	Cr-Jaffé [mg/dl]	Cl <sub>n</sub> [ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ]
6	BN	w	<b>25</b>	21.06.97	0,93	<b>143</b>
7	HW	m	26	21.06.97	<b>1,15</b>	109
55	RD	w	25	23.05.98	0,91	112
56	TS	m	26	23.05.98	1,0	126
59	NJ	m	<b>30</b>	07.07.98	1,05	109
60	SW	w	27	07.07.98	<b>0,9</b>	<b>103</b>

KI: Kenninitialen

**Tab. 16: Profil erwachsener Kontrollprobanden**



## Datenübersicht

KI	Nr.	Geschl.	Alter	Cr-Jaffé	Datum	Cin	Kurz-Zeit-Methode			24-h-Crea-Clearance			Schwartz-Clearance			Cys-c	1/Cys c	CysC DADE GFR
							Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus	Jaffé	Ektachem	Crea plus			
11	SS	m	13	2,46	01.08.1997	23	29	28	31	32	32	34	33	31	32			
13	KG	w	11	0,68	26.08.1997	106	86	182	112	92	125	112	110	137	125			
14	SK	w	17	0,85	27.08.1997	115	134	180	203	64	84	88	112	141	141	0,58	1,72	169
15	CL	w	16	1,19	04.09.1997	63	59	75	74	50	46	53	79	84	87	0,99	1,01	93
16	JH	m	5	<b>5,08</b>	16.09.1997	20	13	13	13	7	8	7	12	10	11	6,92	0,14	10
17	AES	m	<b>3</b>	0,49	19.09.1997	95	94	192	120	90	146	138	103	117	144	0,62	1,61	157
18	KB	w	16	1,24	23.09.1997	52	61	67	72	54	53	65	75	72	80	0,92	1,09	101
21	CV	w	14	1,7	15.10.1997	40	47	50	54	50	42	50	55	52	55	1,37	0,73	64
22	GA	w	13	1,25	21.10.1997	52	55	70	67	28	37	36	65	76	73	2,01	0,50	42
23	AP	m	17	1,05	24.10.1997	100	84	105	105	68	85	74	89	101	96			
25	SH	m	15	1,05	27.10.1997	72	125	151	154	78	103	91	86	98	91	0,92	1,09	101
26	SS	w	15	0,86	27.10.1997	70	75	90	95	37	43	46	91	98	98	0,78	1,28	121
29	TW	w	12	1,01	29.10.1997	58	52	66	66	33	40	42	80	97	90	1,12	0,89	81
30	SG	w	6	0,64	09.11.1997	77	95	99	114	76	87	92	103	110	110	0,69	1,45	139
32	RZ	m	15	1,27	19.11.1997	66	79	84	92	51	53	63	82	71	84	0,94	1,06	98
33	RR	m	13	0,86	24.11.1997	82	87	108	97	55	72	58	130	149	114	0,62	1,61	157
35	MT	w	15	1,22	30.11.1997	37	70	76	100	60	73	89	73	99	106			
37	DR	m	17	1,23	06.01.1998	76	97	82	106	77	87	98	98	104	110	0,76	1,32	125
38	AB	m	12	0,93	11.01.1998	76	87	107	142	54	69	90	93	108	127	1	1,00	92
40	AI	m	14	0,87	15.01.1998	76	110	119	136	74	76	88	83	97	105			
41	PS	m	15	1,13	16.01.1998	69	91	112	114	75	90	99	106	115	116			
43	BL	m	11	1,25	25.01.1998	51	61	72	70	38	49	50	57	60	65			
45	MC	m	15	0,78	03.02.1998	141	137	127	176	159	126	196	153	144	158			
46	MD	w	12	<b>0,58</b>	05.02.1998	126	94	116	171	81	106	156	127	142	205	0,79	1,27	119
47	PZ	m	<b>17</b>	0,81	08.10.1998	90	90	111	146				139	143	185	0,58	1,72	169

50	CS	m	9	1,23	03.04.1998	71	60	66	84	60	67	79	57	55	66	0,9	1,11	103
51	CD	w	14	1,01	16.04.1998	65	61	85	87	50	64	71	85	90	102	0,81	1,23	116
	18 m	Median	14	1,05	Summe	27	27	27	27	26	26	26	27	27	27	19	19	19
	15 w	Range	(3 - 17)	(0,58 - 5,08)	Korrel.		0,81	0,77	0,85	0,80	0,80	0,83	0,86	0,84	0,84	-0,63	0,75	0,80
					Best.		0,66	0,60	0,72	0,64	0,63	0,68	0,75	0,70	0,70	0,39	0,64	0,64
					MW	73	79	98	104	61	72	79	88	96	103	1,23	1,15	108,19
					SD	29	23	33	33	20	25	30	23	27	30	1,38	0,40	40
						f(x)=ax+b	0,82x+19	1,16x+13	1,29x+10	0,78x+5	0,89x+8	1,14x-3	0,93x+20	1,03x+21	1,22x+14		0,013x+0,2	1,36x + 10
						z	1,13	1,03	1,25	1,09	1,09	1,17	1,31	1,21	1,21	-0,74	0,96	1,09
						z1	0,73	0,63	0,85	0,68	0,68	0,77	0,91	0,81	0,81	-1,23	0,47	0,60
						z2	1,53	1,43	1,65	1,50	1,50	1,58	1,71	1,61	1,61	-0,25	1,45	1,58
						95 % von	0,62	0,56	0,69	0,59	0,59	0,64	0,72	0,67	0,67	-0,84	0,44	0,54
						bis	0,91	0,89	0,93	0,90	0,90	0,92	0,94	0,92	0,92	-0,24	0,90	0,92

# Joachim Schmitt

## PERSÖNLICHE DATEN

---

Geburtstag	4. Juni 1971
Geburtsort	Kösching
Familienstand	ledig
Konfession	evangelisch
Vater	Volker Schmitt (Ingenieur)
Mutter	Heide Schmitt (Hausfrau)
Bruder	Markus Schmitt (Student)

## SCHULAUSBILDUNG

---

1977-1980	Grundschule Waldesch
1981-1985	Deutsche Schule Paris
1985-1990	Staatliches Gymnasium auf der Karthause in Koblenz
Abschluss	Abitur 1990

## STUDIUM

---

1992-1994	Theoretische Medizin (Humanbiologie), Philipps-Universität Marburg	
1994-1999	Humanmedizin, Philipps-Universität Marburg	
1999-2000	Praktisches Jahr:	
	1. Tertial: Pädiatrie	Kreisklinik Traunstein, Lehrkrankenhaus der Ludwig-Maximilian Universität (LMU) München Prof. Dr. med. U. Bürger
	2. Tertial: Chirurgie	Hôpital Riviera, Montreux; Universität Lausanne Dr. M. Thiébaud, Dr. R. Cavin
	3. Tertial: Innere Medizin	Kreisklinik Traunstein, Lehrkrankenhaus der LMU München Dr. med. G. Alber

## FAMULATUREN

---

1996	Interdisziplinäre Gastroenterologie, Kreisklinik Traunstein
1997	Radiologische Praxis mit MRT, CT, PET; Dres. Goecke, Trittmacher, Crayen
1998	Ambulanz allgemeine Pädiatrie, Hôpital St. Vincent de Paul, Université Cochin, Paris
1998	Kinderintensivstation, Kreisklinik Traunstein

## ARZT IM PRAKTIKUM

---

07/00 – 09/00	Giftnotrufzentrale des Landes Nordrhein-Westfalen Zentrum für Kinderheilkunde, Universität Bonn
10/00 – 03/01	Neugeborenenstation des Perinatalzentrums der Universität Bonn Abt. Neonatologie, Leiter Prof. Dr. Dr. P. Bartmann Universitäts-Frauenklinik Bonn, Leiter Prof. Dr. M. Hansmann

04/01 – 12/01	Station III, Schwerpunkte: Gastroenterologie, Infektiologie, Endokrinologie und Station I, Schwerpunkte: Pulmonologie des Zentrums für Kinderheilkunde, Universität Bonn Abt. Allg. Pädiatrie, Leiter Prof. Dr. M. J. Lentze
04/01 – 12/01	Regelmäßige Nacht- und Wochenenddienste

#### WISSENSCHAFTLICHE ARBEITEN – MARBURG

---

1998	J. Schmitt, M. Soergel, G. Klaus, HW. Seyberth: Evaluation der Kurzzeit-Kreatinin-clearance; Poster auf dem Jahrestreffen der Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Nephrologie (APN) und Abstrakt in der Mschr. f. Kinderheilk.
1998	S. C. Reinalter, J. Schmitt, H. J. Gröne, N. Jeck, M. Soergel, H. W. Seyberth, G. Klaus: Reversible renal impairment and mild histologic alteration in patients with hereditary salt-wasting tubulopathies under long-term treatment with Indometacin; Poster und Abstract beim 31. Jahrestreffen der American Society of Nephrology
1999	J. Schmitt, G. Klaus, S. C. Reinalter, M. Soergel: Optimierung der Kreatinin-clearance Poster auf dem Jahrestreffen der APN und Abstrakt in der Mschr. f. Kinderheilk.
1999	S. C. Reinalter, J. Schmitt, H. J. Gröne, N. Jeck, M. Soergel, G. Klaus, H. W. Seyberth: Funktionelle und histologische Veränderungen der Niere bei Patienten mit hereditären hypokaliämischen Salzverlust-Tubulopathien unter Indometacin-Dauertherapie; Poster auf dem Jahrestreffen der APN und Abstrakt in der Mschr. f. Kinderheilk.

#### WISSENSCHAFTLICHE ARBEITEN – BONN

---

2/2001	Einladungsvortrag zum Kinderurologie-Symposion März 2001: Prognostische Bedeutung des Urinoms bei infravesikaler Obstruktion.
3/2001	J. Schmitt, H. Plath, A. Bökenkamp, M.J. Lentze, P. Bartmann, A. Heep: Konnatale Urinome bei Urethralclappen: Betrachtung der Nierenfunktion in fünf Fällen; Postervortrag auf dem Jahrestreffen der APN und Abstrakt in „Nieren- und Hochdruckkrankheiten“ 3/01
6/2001	J. Schmitt, A. Heep, H. Plath, A. Bökenkamp, M. Hansmann, P. Bartmann: Konnatale Urinome bei Urethralclappen: Betrachtung der Nierenfunktion in fünf Fällen; Vortrag auf dem 9. Kongress für Pränatal- und Geburtsmedizin
9/2001	J. Schmitt, A. Heep, P. Bartmann, M. Hansmann, M.J. Lentze, A. Bökenkamp: The prognostic impact of connatal urinoma in boys with posterior urethral valves; 12. Congress of the International Pediatric Nephrology Association IPNA, Seattle DFG-Stipendium
3/2003	A. Bökenkamp, J. Schmitt, G. Düker, B. Stoffel-Wagner, A. Malek, H. Schneider: No evidence of placental production or metabolism of Cystatin C and $\beta$ 2-Microglobulin; Postervortrag beim 11th International Workshop on Neonatal Nephrology
7/2004	Boris Utsch, Siegfried Waldegger, Gesche Düker, Joachim Schmitt, Stefan Fründ, Michael Ludwig and Arend Bökenkamp Hypercalciuria is not essential for the diagnosis of Dent's disease In Review bei Kidney international (7/2004)

Bonn, 12. August 2004

Joachim Schmitt

## **Akademische Lehrer**

Meine akademischen Lehrer im Fachbereich Humanbiologie und Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren:

Arnold, Basler, Baum, Beato, Daut, Engel, Eschenbach, Fruhstorfer, Fuhrmann, Ganz, Geus, Gotzen, Gressner, Griss, Habermehl, Happle, Hesse, Joseph, Kälble, Kern, Klenk, Koolmann, Kroll, Lang, Lennartz, Maisch, Mennel, Mueller, Oertel, Pohlen, Renschmidt, Röhm, Rothmund, Schachtschabel, Schäfer, Schulz, Seifart, Seitz, Seyberth, Steiniger, Stinner, Thomas, Voigt, von Wichert, Werner

Meine akademischen Lehrer im Fachbereich Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München waren die Damen und Herren:

Bürger, Krawietz, Pilars, Pütterich, Trautner

## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt **Prof. Dr. Günter Klaus** für die Überlassung des Themas, die Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten ohne Einschränkung der Freiräume, seiner ständigen Diskussionsbereitschaft und der unendlichen Geduld.

Nicht weniger möchte ich **Dr. Marianne Soergel** danken für etliche Gedankenimpulse und ihre messerscharfe konstruktive Kritik, die mir geholfen hat, viele Dinge klarer zu sehen, so dass diese Arbeit entstehen konnte.

Vielen dank auch an **Prof. Dr. H. W. Seyberth**, der mir ermöglichte diese Arbeit an der Kinderklinik durchzuführen und mit seinem wachsenden Interesse an den Ergebnissen mich in meiner Arbeit bestätigte und motivierte.

**Dr. Stefan Reinalter** möchte ich danken für die freundschaftliche und kooperative Zusammenarbeit während der Durchführung der Studienprotokolle.

Danke an:

- Frau Herrmann aus dem nephrologischen Labor der Universitäts-Kinderklinik Heidelberg für die Einführung in die Inulin-Analytik
- Frau Dr. Helwig-Rolig und dem gesamten Team des Zentrallabors des Klinikums Marburg und dem klinischen Labor der Kinderklinik für die unkomplizierte und schnelle Durchführung von mehr als 500 Kreatinin-Bestimmungen
- das gesamte Team des molekulargenetischen Labors für die freundliche Aufnahme, die geduldigen Erklärungen und vielen netten Gespräche
- dem Pflorgeteam der Station 5, die Unmengen Urin sammeln, messen und lagern mussten

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität in Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate bei Kindern und Jugendlichen: Alternative Methoden zur Inulin-Clearance und der Einfluss der laborchemischen Untersuchungsmethoden“ im Medizinischen Zentrum für Kinderheilkunde, unter Leitung von Prof. Dr. med. G. Klaus mit Unterstützung durch Frau Dr. med. M. Soergel ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Bonn, 14. Mai 2004

Joachim Schmitt